

Studijní program: Chemie
Studijní obor: Analytická chemie



Bc. Jana Vosáhlová

Borem dopované diamantové elektrody:
Využití pro stanovení redukovatelných organických látek

Boron - doped diamond electrodes:

Utilization for determination of reducible organic compounds

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce: RNDr. Karolina Schwarzová, Ph.D.

Praha 2015

Tato diplomová práce vznikla v souvislosti s řešením projektu GAUK 684213.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Jsem si vědoma toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu v Praze je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne 15. 5. 2015

Ráda bych především poděkovala paní RNDr. Karolině Schwarzové, Ph.D. za odborné vedení, dobré rady, ochotu a trpělivost. Dále bych chtěla poděkovat panu Ing. Václavu Petrákovi za přípravu a poskytnutí diamantových elektrod a RNDr. Ivaně Šloufové, Ph.D. za pomoc se spektrální charakterizací diamantových filmů. A samozřejmě děkuji své rodině a známým za podporu během studia.

Obsah

1. Úvod.....	11
1.1. Cíl práce.....	11
1.2. Příprava, vlastnosti a charakterizace borem dopovaných diamantových elektrod...12	
1.2.1. Příprava borem dopovaných diamantových elektrod.....	12
1.2.1.1. Chemická depozice par pomocí žhaveného vlákna (HPCVD).....	13
1.2.1.2. Chemická depozice par pomocí mikrovlnné plazmy (MPCVD).....	13
1.2.2. Vlastnosti a charakterizace borem dopovaných diamantových elektrod.....	13
1.2.2.1. Terminace povrchu borem dopované diamantové elektrody.....	14
1.2.2.2. Obsah boru v diamantové elektrodě.....	15
1.3. Elektrochemicky redukovatelné organické sloučeniny.....	16
1.3.1. Nitro skupina (-NO ₂) na aromatickém jádře.....	19
1.3.1.1. 5-nitrochinolin.....	20
1.3.2. Azidová skupina (-N ₂).....	21
1.3.2.1. Azidothymidin (AZT) Zidovudin.....	22
1.3.3. Azo skupina (-N ₂ -).....	23
1.3.3.1. Tartrazin (E102)	24
1.3.3.2. Červeň Allura (E129)	25
1.3.4. Aromatické aldehydy (Ar-CHO).....	26
1.3.4.1. Vanilin.....	26
2. Experimentální část.....	27
2.1. Chemikálie.....	27
2.2. Aparatura.....	28
2.2.1. Borem dopované diamantové elektrody.....	28
2.3. Pracovní postupy.....	29
3. Výsledky a diskuze.....	30

3.1. Charakterizace borem dopované diamantové elektrody.....	30
3.2. Studium redukce kyslíku na BDD elektrodě.....	33
3.3. Elektrochemická redukce 5-nitrochinolinu na BDD elektrodě.....	37
3.3.1. Optimalizace podmínek pro stanovení 5-nitrochinolinu.....	37
3.3.1.1. Vliv pH na voltamogramy 5-nitrochinolinu.....	37
3.3.1.2. Vliv předpřípravy, elektrochemické a mechanické aktivace elektrodového povrchu.....	42
3.3.2. Cyklická voltametrie 5-nitrochinolinu.....	46
3.3.3. Kalibrační závislost 5-nitrochinolinu.....	49
3.4. Elektrochemická redukce azidothymidinu (AZT) na BDD elektrodě.....	51
3.5. Elektrochemická redukce vanilinu.....	52
3.6. Elektrochemické stanovení potravinářských azobarviv.....	53
3.6.1. Optimalizace podmínek pro voltametrické stanovení tartrazinu a allurové červeně.....	54
3.6.1.1. Vliv předpřípravy borem dopované diamantové elektrody.....	54
3.6.1.2. Vliv pH prostředí na elektrochemickou redukci azobarviv.....	55
3.6.1.3. Vliv aktivace borem dopované diamantové elektrody mezi scany.....	56
3.6.2. Elektrochemická redukce azobarviv v reálném vzorku.....	66
3.6.2.1. Vliv matrice na stanovení azobarviv v reálném vzorku.....	66
3.6.2.2. Kalibrační závislost a stanovení azobarviv v reálném vzorku limonády.....	70
4. Závěr.....	72
Literatura.....	75

Abstrakt

Studie se zabývá možnostmi využití borem dopovaných diamantových elektrod (BDD) pro elektrochemickou redukci organických látek – a pro jejich stanovení ve vodných prostředích, k čemuž mají BDD elektrody dobré předpoklady (relativně široké potenciálové okno v katodické oblasti, omezená citlivost k redukci kyslíku), ale jsou k tomuto účelu omezeně používány. Pro studii byly vybrány biologicky aktivní organické látky s typickými redukovatelnými skupinami. Vanilin (přírodní silice, syntetické aroma; redukovatelný aromatický aldehyd) na BDD elektrodě elektrochemicky redukovat nelze a azidothymidin (antivirotikum, redukovatelná azidoskupina) vykazuje redukční signál v prostředí BR pufru v rozsahu pH 6,0 - 8,0, který je ale z analytického hlediska obtížně využitelný vzhledem k poloze blízké rozkladu základního elektrolytu. Pro 5-nitrochinolin (environmentální polutant; redukovatelná nitro skupina na aromatickém jádře a dále při vyšších potenciálech redukovatelný heterocyklus) má významný vliv na výšku a polohu redukčního píku koncentrace boru v BDD filmu. Redukce chinolinového skeletu je viditelná v rozsahu pH 6,0 – 11,0 v BR pufru. Pro diferenční pulzní i DC voltametrii (redukce nitroskupiny) v optimalizovaném prostředí o pH 5,0 byly určeny meze detekce $0,2 \mu\text{mol.l}^{-1}$ a $2,7 \mu\text{mol.l}^{-1}$ při použití anodické předpřípravy elektrody, která byla vhodnější než katodická. Ta byla naopak nutná v případě redukce tartrazinu a červeně allura (azobarviva, redukovatelná azo skupina), kdy limity detekce v prostředí $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ kyseliny sírové. Pro diferenční pulzní voltametrii byly $1,10 \mu\text{mol.l}^{-1}$ pro tartrazin a $0,66 \mu\text{mol.l}^{-1}$ pro allurovou červeně. Pro tyto látky byla vyvinuta metoda standardního přídatku pro stanovení v reálném vzorku limonády.

Abstract

In this study the possibilities of utilization of boron-doped diamond (BDD) electrodes for electrochemical reduction of organic compounds and their determination in aqueous media were investigated. For this purpose BDD electrodes have several advantages (relative wide potential window in cathodic region, low sensitivity towards oxygen evolution) but are not frequently used. For the study were selected biologically active organic compounds with typical reducible groups. Vanillin (natural essential oil, synthetic aroma; reducible aromatic aldehyde) is not reducible at BDD electrode. Azidothymidine (antiviral drug; reducible azido group) shows voltammetric signal in Britton –Robinson buffer at pH 6.0 – 8.0, but its analytical utilization is difficult due to the close positioning to the decomposition of the supporting electrolyte. The height and potential of the reduction signal of 5-nitroquinoline (environmental pollutant; reducible nitro group on the aromatic nucleus and at higher potentials reducible heterocycle) is significantly influenced by the boron concentration in BDD film. Reduction of quinoline skeleton is visible in the range of pH 6.0 – 11.0 in BR buffer. For differential pulse and DC voltammetry (reduction of nitro group) in BR buffer pH 5.0 limits of detection $0.2 \mu\text{mol.l}^{-1}$ and $2.7 \mu\text{mol.l}^{-1}$ were achieved using anodic pretreatment of the BDD surface over performing the cathodic one. That was, however, together with acidic media of 0.1 mol.l^{-1} sulfuric acid preferred for reduction of Tartrazine and Allura Red (azodyes; reducible azo group). For these azodyes limits of detection $1.10 \mu\text{mol.l}^{-1}$ and $0.66 \mu\text{mol.l}^{-1}$ for differential pulse voltammetry were achieved and further, a standard addition method for their simultaneous determination in the real sample of a soft drink was developed.

Klíčová slova

borem dopovaná diamantová elektroda

azobarviva

5-nitrochinolin

voltametrie

Key Words

boron-doped diamond electrode

azodyes

5-nitroquinoline

voltammetry

Seznam zkratek

AFM	mikroskopie atomárních sil
AP	anodická předpříprava „anodic pretreatment“
AZT	azidothymidin (zidovudin)
BDD	borem dopovaný diamant
BR	Brittonův – Robinsonův pufr
c	molární koncentrace
c_{st}	molární koncentrace standardů
CP	katodická předpříprava „cathodic pretreatment“
CV	cyklická volumetrie
CVD	chemická depozice par „chemical vapour deposition“
DPP	diferenční pulzní polarografie
DPV	diferenční pulzní voltametrie
DCV	„direct current“ voltametrie
E_p	redoxní potenciál píku
E102	tartrazin
E129	červeň allura
ESI/MS/MS	tandemová hmotnostní spektrometrie s ionizací elektrosprejem
GCE	elektroda ze skelného uhlíku „glassy carbon electrode“
HFCVD	chemická depozice par za pomoci žhaveného vlákna „hot filament chemical vapour deposition“
HMDE	visící rtuťová kapková elektroda
I_p	výška píku
LOD	mez detekce
LOQ	mez stanovitelnosti
m-AgSAE	meniskem modifikovaná stříbrná tuhá amalgámová elektroda

MPCVD	chemická depozice par za pomoci mikrovlnné plazmy „microwave plasma chemical vapour deposition“
n	počet měření
p-AgSAE	leštěná stříbrná tuhá amalgámová elektroda
SEM	skenovací elektronová mikroskopie
SIMS	hmotnostní spektrometrie sekundárních iontů
SWV	„square wave“ voltametrie
XPS	rentgenová fotoelektronová spektroskopie

1 Úvod

Borem dopované diamantové (BDD) elektrody jsou perspektivním typem uhlíkových elektrodových materiálů. Pro použití v elektrochemii byly zavedeny v roce 1992 (cit. ^{1,2}) a mohou být díky vlastnostem diamantu používány za extrémních podmínek – vysokého tlaku, teploty nebo v koncentrovaných roztocích kyselin a zásad. Tento typ elektrodového materiálu je právě díky svým unikátním vlastnostem vhodný například pro environmentální analýzu³ nebo k elektrosyntéze⁴. Diamantové elektrody nejsou běžně používány pro stanovení redukovacích se organických sloučenin², i když pro tato stanovení mají dobré předpoklady: malou citlivost k redukci kyslíku, poměrně velký rozsah potenciálového okna i na katodické straně oproti jiným pevným elektrodám, odolnost vůči pasivaci elektrodového povrchu^{3,5} a možnost jeho *in-situ* elektrochemické obnovy.

1.1. Cíl práce

Cílem práce bylo otestovat možnosti využití BDD elektrod pro voltametrické stanovení vybraných redukovatelných organických látek. Pro studii byly vybrány některé biologicky významné látky s typicky redukovatelnými skupinami: 5-nitrochinolin (environmentální polutant – vznikající při nedokonalém spalování; redukovatelná nitro skupina na aromatickém jádře a dále při vyšších potenciálech redukovatelný heterocyklus), azidothimidin (antivirotikum, redukovatelná azidoskupina), tartrazin (E102) a červeň allura (E129) (azobarviva, redukovatelná azo skupina), vanilin (přírodní silice, syntetické aroma; redukovatelný aromatický aldehyd).

Elektrochemická redukce těchto látek byla doposud studována na rtuťových či amalgámových elektrodách^{6,7,8}. V rámci této studie byl pro vybrané analyty studován vliv přítomnosti kyslíku na voltametrickou odezvu, vliv koncentrace boru v BDD filmu a vliv předpřípravy BDD povrchu a aktivace mezi jednotlivými scany. Pro analyty, u kterých se elektrochemická redukce ukázala jako perspektivní možnost, byla vyvinuta voltametrická metoda jejich stanovení.

1.2. Příprava, vlastnosti a charakterizace borem dopovaných diamantových elektrod

V diamantových filmových elektrodách vysoké kvality se vyskytuje uhlík s hybridizací sp^3 , na kterém jsou navázány jiné 4 atomy uhlíku se stejnou hybridizací⁹. Méně kvalitní diamantové elektrody obsahují více sp^2 hybridizovaných atomů uhlíku⁴, který je základem ostatních elektrodových materiálů na bázi uhlíku. Diamant se vyznačuje chemickou a mechanickou odolností a je přírodním izolantem, proto se pro elektrochemické účely musí dopovat jiným atomem^{4, 10}. Nejčastěji se používá bor, ale mohou se používat i jiné prvky jako například dusík, fosfor, síra, fluor³.

1.2.1. Příprava borem dopovaných diamantových elektrod

Diamantové filmové elektrody se připravují chemickou depozicí par (CVD) za použití jejich vhodné aktivace, nejčastěji pomocí žhaveného vlákna (HFCVD - hot filament chemical vapour deposition) nebo mikrovlnné plazmy (MPCVD - microwave plasma chemical vapour deposition). Výsledkem procesu je tenká vrstva dopovaného diamantu o tloušťce až 10 μm na podkladovém materiálu (substrátu). Metody přípravy diamantového filmu jsou popsány v následujících podkapitolách. Obecně je výběr substrátu pro depozici omezen vysokou teplotou depozičního procesu. Jako podklad se nejčastěji používá křemík, ale je možné použít i jiné materiály, jako platinu, molybden, wolfram, niob nebo titan^{3,11,1}. P-křemík je jako substrát pro depozici nejběžněji používán díky své strukturní podobnosti k diamantu¹ a nízké ceně. Jako krystalizační centra na zvoleném podkladu slouží zbytky diamantové pasty, kterou se očištěný podkladový materiál před vlastní depozicí přešetří. Směs par pro chemickou depozici se většinou skládá z methanu jako zdroje uhlíku, vodíku a diboranu jako zdroje dopantu (boru)³. Zdrojem uhlíku mohou být i jiné uhlovodíky (např. směs acetonu a methanolu). Vodík ve směsi spaluje grafitický uhlík, který se může objevit ve filmu a tím ho „znehodnotit“. Zdrojem boru nemusí být pouze diboran, jsou používány i jiné sloučeniny jako trimethylbor nebo organické boráty¹. Obsah boru v deponovaném filmu je srovnatelný s jeho obsahem v plynné směsi a poměrem B/C se diamantové filmy označují. Povrch filmu vyrobený chemickou

depozicí par je hydrofobní díky vodíkové vrstvě na jeho povrchu vzniklé depozicí ve vodíkové atmosféře na konci depozičního procesu⁴, viz kapitola 1.2.2.1.

1.2.1.1. Chemická depozice par pomocí žhaveného vlákna (HFCVD)

Chemická depozice par pomocí žhaveného vlákna je jedním z běžně používaných typů chemické depozice par. Žhavené vlákno se zahřívá pomocí elektrického proudu na vysokou teplotu kolem 2800 °C (cit. ²). Teplota plynné směsi se pohybuje okolo 800 °C (cit. ^{9,1,12}). Tento způsob je využíván především díky relativně levné aparatuře a vzniku kvalitních filmů. Míra disociace a vznik vodíkových radikálů energetickou aktivací závisí na tvaru vlákna a charakteru proudu. Koncentrace vodíku ve velké míře ovlivňuje kinetiku reakce, protože při vysoké teplotě velmi snadno disociuje¹³. Disociované vodíky excitují druhou složku plynné směsi (methan, aceton), z které se tvoří radikály a ty tvoří na podkladovém materiálu diamantový film.

1.2.1.2. Chemická depozice par pomocí mikrovlnné plazmy (MPCVD)

Chemická depozice par pomocí mikrovlnné plazmy se může používat při nižších teplotách než HFCVD a její výhodou je vznik kvalitních dopovaných diamantových filmů. Při této metodě se používá plazmatu k iniciaci chemické reakce. V mikrovlnném poli vznikají elektrony s vysokou energií, které iniciují radikálové reakce ve směsi par a ta se proto nemusí zahřívát na vysokou teplotu. Zdrojem mikrovlnné plazmy bývá magnetron. Výkon mikrovlnného zdroje je 1000 – 1300 W (cit. ^{9,1,2,12}). Jednou z nevýhod této metody je nemožnost deponování diamantového filmu na velké plochy.

1.2.2. Vlastnosti a charakterizace borem dopovaných diamantových elektrod

Borem dopované diamantové elektrody mohou vykazovat polovodičový, kovový nebo supravodivý charakter elektrické vodivosti^{9,14}. Existuje mnoho typů diamantových filmových elektrod, které se liší svými vlastnostmi nejen typem použitého dopantu, ale i typem použitého substrátu, morfologií diamantového povrchu, obsahem zvoleného dopantu a obsahem nečistot^{4, 9, 15}. Změny v charakteru vodivosti jsou dány obsahem boru v diamantovém filmu, krystalickým uspořádáním filmu a obsahem nečistot.

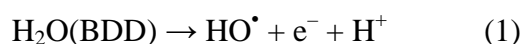
Elektrody se nejběžněji dopují v rozsahu obsahu boru v diamantovém filmu 10^{17} – 10^{21} atomů dopantu na cm^{-3} diamantového filmu^{5,16}, viz podkapitola 1.2.2.2. Vlastnosti BDD elektrod se také liší podle toho, zda mají na svém povrchu navázaný vodík nebo funkční skupiny obsahující kyslík¹⁰ (takzvaně vodíkem nebo kyslíkem terminované BDD povrchy; viz kapitola 1.2.2.1.). Velikost potenciálového okna (v kyselých prostředích až 4 V) závisí na kvalitě diamantového filmu, pH, koncentraci základního elektrolytu a obsahu boru v diamantovém filmu. Diamantové filmové elektrody se také vyznačují malou kapacitou elektrochemické dvojvrstvy a nízkým zbytkovým proudem. Díky tomu vykazují v mnohých případech lepší meze detekce než jiné typy uhlíkových elektrod⁹. Kvalita BDD elektrod je zkoumána většinou pomocí Ramanovy spektroskopie¹⁷, která je citlivá na určení obsahu sp^2 nečistot. Pomocí hmotnostní spektrometrie sekundárních iontů (SIMS) je také možné zjistit složení povrchu diamantového filmu. Morfologie povrchu se studuje pomocí skenovací elektronové mikroskopie (SEM), mikroskopie atomárních sil (AFM)¹⁸ a rentgenové fotoelektronové spektroskopie (XPS). Pro určení elektrochemické odezvy diamantových filmových elektrod je používána cyklická voltametrie modelových redoxních systémů, např. $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$, $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+/2+}$ nebo chinon/hydrochinon. Kinetika přenosu elektronu u systému $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ je velmi citlivá na stav elektrodového povrchu a rozdíly potenciálu katodického a anodického píku se používají k určení kvality diamantového filmu^{15,18}.

1.2.2.1. Terminace povrchu borem dopované diamantové elektrody

Terminace povrchu je jedna z charakteristik dopované diamantové elektrody, kterou lze jako jedinou měnit před použitím elektrody². Změnou terminace lze částečně upravit vlastnosti elektrody tak, aby lépe vyhovovaly našim účelům. Borem dopované diamantové elektrody se připravují v atmosféře obsahující vodík, proto je jejich povrch před prvním použitím vodíkem terminovaný („as-prepared“, „H-terminated“). Stabilita vodíkem terminované elektrody a její přeměna na elektrodu kyslíkem terminovanou je dána vkládaným potenciálem a pH roztoku, ve kterém elektrodu používáme¹⁹. Borem dopované diamantové elektrody s vodíkovým povrchem vykazují rychlejší přenos elektronů, který s časem klesá právě kvůli ztrátě povrchových vodíků. Na stabilitu vodíkového povrchu má vliv také oxidace vzdušným kyslíkem, proto se elektroda musí

připravit bezprostředně před jejím použitím. Obsah boru v diamantovém filmu má stabilizační efekt na H-terminovaný povrch elektrody. Terminací vodíkem se získá více volných nosičů a polovodičový charakter filmu se může změnit na kovový charakter vodivosti^{20,21}. Vodíkem terminované elektrody mají hydrofobní charakter a neadsorbují se na ně polární sloučeniny, proto je zpomalen vývoj vodíku a kyslíku na okrajích potenciálového okna (tj. mají ho zpravidla širší v porovnání s oxidovanými filmy) a halogenů^{9,19}. Rovnice (2,3) vývoje vodíku na katodické straně potenciálového okna je uvedena v následující kapitole 1.2.2.2.

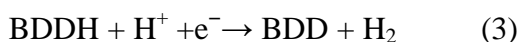
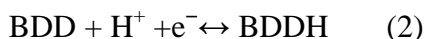
Oxidované BDD filmy („O-terminated“) jsou hydrofilní s nižší vodivostí než H-terminované povrchy, díky navázaným skupinám obsahujících kyslík (ether, hydroxyl) na povrchové uhlíkové atomy BDD filmu. Tato oxidace je nejčastěji prováděna elektrochemicky, vložením kladného potenciálu v oblasti úniku základního elektrolytu v kyselém prostředí^{11,22}. Povrch je oxidován OH radikály, které vznikají na BDD povrchu anodickým rozkladem vody (rovnice 1). Tyto radikály jsou zodpovědné za oxidaci látek, které na jiných elektrodách oxidovatelné nejsou. Tato reakce je prvním stupněm vývoje kyslíku a jeho přepětí.



1.2.2.2. Obsah boru v diamantové elektrodě

Obsah boru v BDD elektrodě zásadně ovlivňuje elektrochemickou aktivitu elektrody. Čím je v diamantovém filmu více boru tím se v něm zpravidla nachází i více sp^2 uhlíkových nečistot. Diamantová elektroda s vyšším obsahem boru vykazuje kovový charakter vodivosti, zatímco elektrody s nižším obsahem boru zhruba do $3 \cdot 10^{20}$ atomů boru v cm^{-3} diamantového filmu se chovají jako polovodivé¹⁷. Jak bylo zmíněno v předešlé kapitole 1.2.2., diamantové filmy jsou vyráběny s obsahem boru v rozsahu 10^{17} – 10^{21} atomu boru na cm^{-3} diamantového filmu, což odpovídá zhruba poměru B/C v plynné fázi při depozici od 500 ppm do 15000 ppm (cit. ^{5,16}). S rostoucím obsahem boru v diamantovém filmu se zužuje potenciálové okno především z katodické strany. Diamantové filmy s kovovým charakterem vodivosti mají tedy menší potenciálové okno než elektrody polovodičové za stejných podmínek. Katodická strana

potenciálového okna, která se zužuje více než strana anodická, je dána vývojem vodíku, jehož mechanismus má dva kroky (viz následující reakce 2 a 3). Prvním krokem je adsorpce vodíkového kationtu na povrch diamantového filmu (Volmerův krok, rovnice 2) a v druhém kroku se adsorbuje zredukovaný proton, jenž katalyzuje další redukci protonů (Heyrovského krok, rovnice 3). Který z těchto kroků je rychlost určující, není známo. Nicméně je evidentní, že adsorpce je vázána na obsah boru vzhledem ke zkrácení potenciálového okna s rostoucím obsahem dopantu²³.



S rostoucím obsahem boru v diamantovém filmu se také zvyšuje proudová odezva některých organických elektroaktivních látek, jak bylo ukázáno pro 2-aminobifenyl v bakalářské práci autorky²⁴ či pro benzofenon-3 (cit. ²⁵). Kvalitní diamantové filmy s menším obsahem dopantu, tudíž i s menším obsahem případných nečistot mají rozsah potenciálového okna až 4 V.

1.3. Elektrochemicky redukovatelné organické sloučeniny

Organické látky podléhající elektrochemické redukci obsahují jednu nebo více redukovatelných funkčních skupin; zpravidla obsahují velmi polární nebo nenasycenou vazbu²⁶. Elektrochemickými metodami se stanovují převážně pomocí rtuťových a amalgámových elektrod; možnosti jejich využitím k těmto účelům byly v poslední době předmětem několika přehledných referátů^{27,28,29}. Elektrody na bázi uhlíku jsou obecně využívány k elektrochemickým redukcím méně, vzhledem k menšímu potenciálovému oknu v katodické oblasti popřípadě dalším nevýhodám, jako je např. obtížné odstraňování kyslíku z elektrodového materiálu v případě uhlíkových pastových elektrod³⁰. Také BDD elektrody jsou k elektrochemickým redukcím využívány spíše okrajově, ačkoliv jejich potenciálové okno na katodické straně je pro řadu redukovatelných analytů dostatečné, nejsou náchylné k absorpci kyslíku do materiálu elektrody či jeho adsorpci na povrch. V tabulce 1 jsou uvedeny některé redukovatelné látky, jejichž elektrochemické chování bylo pomocí BDD elektrod studováno a byly využity k jejich voltametrickému stanovení. Nejčastěji byly studovány

látky obsahující nitroskupinu na aromatickém jádře (dichloran, chloramfenikol, 1-nitrophen, methylparathion,) dále byla studována některá léčiva a herbicidy. Pro studium redukce na BDD elektrodě byly používány všechny typy předpřípravy (CP, AP, leštění).

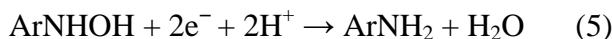
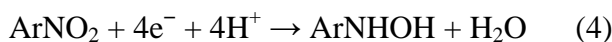
Tab. 1: Shrnutí látek, které byly studovány na BDD elektrodě pomocí elektrochemické redukce.

Látka	Předpříprava	Prostředí	Metoda	Mez detekce	Citace
Barviva					
Tartrazin + Žlutý SY	CP při $i = -0,5 \text{ A.cm}^{-2}$ ($t = 3 \text{ min}$) v $0,5 \text{ mol.l}^{-1}$ H_2SO_4	$0,1 \text{ mol.l}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$	DPV	$62,7 \text{ nmol.l}^{-1}$ $13,1 \text{ nmol.l}^{-1}$	[31]
Žlutý SY + Brilantní modř			DPV	$25,6 \text{ nmol.l}^{-1}$ 143 nmol.l^{-1}	
Farmaceutika					
Nitrofurazon		BR pufr pH 4	DPV	$0,34 \text{ }\mu\text{mol.l}^{-1}$	[32]
Quinizarin	Leštění 1 minutu před každým scanem	-	CV	$0,2 \text{ }\mu\text{mol.l}^{-1}$	[33]
Chinin	AP při $+2,4\text{V}$ v $0,5 \text{ mol.l}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$; míchání před každým scanem (30 s)	BR pufr pH 5	DPV	$43,3 \text{ }\mu\text{mol.l}^{-1}$	[34]
Brimonidin	CP při -1.5 V (60 s) v $0,25 \text{ mol.l}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$	$0,1 \text{ mol.l}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ BR pufr pH 3	DPV SWV	$0,64 \text{ }\mu\text{mol.l}^{-1}$ $0,13 \text{ }\mu\text{mol.l}^{-1}$	[35]
Agrochemikálie					

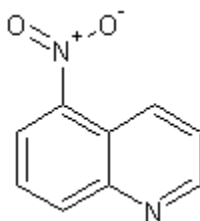
Paraquat	Bez předpřípravy, leštění před použitím	pH 9,0, amonný pufr	SWV	0,0015 $\mu\text{mol.l}^{-1}$	[36]
Methyl parathion	CP při $-3,0 \text{ V}$ (30 s) v 0.5 $\text{mol.l}^{-1} \text{H}_2\text{SO}_4$	-	Sono- SWV	0.019 $\mu\text{mol.l}^{-1}$	[37]
Nitroderiváty polycyklických aromatických uhlovodíků					
1-nitropyren	aktivace: $E_{1\text{reg}} = +800 \text{ mV}$, $t_{1\text{reg}} = 0,3 \text{ s}$ a $E_{2\text{reg}} = -500 \text{ mV}$, $t_{2\text{reg}} = 0,3 \text{ s}$.	methanol:BR pufr (30:70); pH 3	DPV	0,3 $\mu\text{mol.l}^{-1}$	[38]
3-nitrofluorathen	-	methanol : BR pufr (1:1); pH 12,2	DPV	0,03 $\mu\text{mol.l}^{-1}$	[39]

1.3.1. Nitro skupina (-NO₂) na aromatickém jádře

Elektrochemické stanovení nitrolátek se provádí především na elektrodách na bázi rtuti (tj. elektrody rtuťové a stříbrné amalgámové) různými voltametrickými metodami především v mírně zásaditých oblastech^{40,38}. Látky obsahující nitro skupiny na aromatickém jádře jsou toxické, pravděpodobně kvůli vzniku reaktivního volného nitroradikálu v jejich metabolické dráze⁴¹. Pravděpodobná transformace nitro skupiny na aromatickém jádře je znázorněna v několika studiích^{41,42}. Mechanismus elektrochemické redukce nitroskupiny byl popsán v mnoha studiích a je závislý na pH prostředí, obsahu organických rozpouštědel a materiálu elektrody²⁸⁻³⁰. Nitroskupina na aromatickém jádře se obecně redukuje ireverzibilně čtyřmi elektrony na hydroxylaminovou skupinu, jak je znázorněno rovnicí 4 (cit. ⁴²⁻⁴³). V kyselých prostředích může dále docházet k dvouelektrodové redukci na aminoderivát^{43,44}, rovnice 5. V zásaditých oblastech na pevných elektrodách nebo v nevodných prostředích se nitro skupina může na hydroxylamin redukovat dvoustupňově, kdy prvním krokem je rychlá jedoelektronová redukce na nitroradikálaniont (viz rovnice 12, kapitola 3.3.1.1. experiment)⁴³.

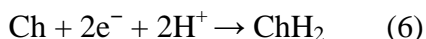


1.3.1.1. 5-nitrochinolin



Obr. 1: Strukturní vzorec 5-nitrochinolinu.

Studovanou látku pro redukci nitroskupiny na BDD elektrodě byl vybrán 5-nitrochinolin, který kromě této skupiny obsahuje potenciálně redukovatelný heterocyklus –chinolinový skelet (v rovnicích značen Ch). Jeho redukce probíhá dvoustupňově, jak je naznačeno rovnicemi 6 a 7 (cit. ^{43,40}). Studie zabývající se elektrochemickým stanovením 5-nitrochinolinu, jsou shrnuty v tab. 2.



5-nitrochinolin je žlutá krystalická látka, která je za normálních podmínek stabilní. Vzniká například při spalování organického materiálu. Patří mezi cytotoxické látky.

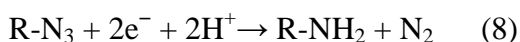
Tab. 2: Příklady elektrochemického stanovení 5-nitrochinolinu s uvedeným prostředím, limitem detekce či stanovení a lineárním dynamickým rozsahem.

elektroda	LOD nebo LOQ (mol.l ⁻¹)	LDR (mol.l ⁻¹)	metoda	pH, prostředí	citace
m-AgSAE	LOD 1.10 ⁻⁸	2.10 ⁻⁷ –1.10 ⁻⁴ 4.10 ⁻⁷ –1.10 ⁻⁴	DPV DCV	pH 9,0; 0,05mol.l ⁻¹ borátový pufr	[40]
uhlíková filmová	LOQ 5.10 ⁻⁷		DPV	pH 11, BR pufr	[45]
DME	LOQ≈9.10 ⁻⁷ LOQ 1.10 ⁻⁸		DCTP DPP	1.10 ⁻³ mol.l ⁻¹ LiOH, methanol	[46]
HMDE	LOQ 2.10 ⁻⁸		DPV		

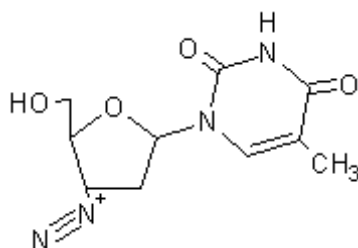
DCTP - „direct current“ tast polarografie, DCV -,„direct current“ voltametrie, DPV/P – diferenční pulzní voltametrie/polarografie, DME – rtuťová kapající elektroda, HMDE – visící rtuťová kapková elektroda, m-AgSAE - meniskem modifikovaná stříbrná tuhá amalgámová elektroda

1.3.2. Azidová skupina (-N₂)

Pro elektrochemické metody stanovení je zásadní ireverzibilní redukce azidoskupiny. Její mechanismus byl popsán na rtuťové elektrodě, kde probíhá pomocí čtyř elektronů a dvou protonů⁴⁷. Konečným produktem je aminoskupina, jak je vidět ve schématu redukce azidoskupiny, rovnice 8 a 9.



1.3.2.1. Azidothymidin AZT – Zidovudin



Obr. 2: Strukturní vzorec azidothymidinu (zidovudin).

Azidothymidin (3'-azido-3'-deoxythymidine) je nukleosidový inhibitor reverzní transkriptázy, který byl oficiálně povolen k léčbě AIDS roku 1987 (cit. ⁶). Toto antiretrovirotikum je doposud používáno samostatně nebo v kombinaci s jiným léčivem. Bylo vyvinuto mnoho metod stanovení AZT a to jak pro stanovení v plazmě nebo jiných biologických matricích, tak i pro stanovení v léčivu^{48,6}. Ze studií redukce AZT vyplývá, že v kyselých i zásaditých prostředích dochází k dvouelektronové nebo čtyřelektronové redukci⁴⁹. Azidothymidin je běžně stanovován kapalinovou chromatografií s UV detekcí nebo hmotnostní tandemovou detekcí⁶. K elektrochemické redukci byly dosud použity pouze elektrody rtuťové či amalgámové, jak vyplývá z přehledu voltametrických metod stanovení v tabulce 3.

Tab. 3: Příklady elektrochemického stanovení azidothymidinu s uvedeným prostředím, limitem detekce a metodou stanovení.

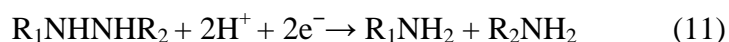
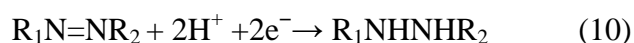
elektroda	LOD (mol.l ⁻¹)	LDR (mol.l ⁻¹)	pH, prostředí	metoda	citace
HMDE	1.10 ⁻⁸	1.10 ⁻⁶ –5.10 ⁻⁶	pH 8, fosfátový pufr	DPP	[50]
p-AgSAE	0,20.10 ⁻⁶	0,6.10 ⁻⁶ –1,3.10 ⁻³	pH 9.3, 0,05mol.l ⁻¹ borátový pufr	DPV	[6]
m-AgSAE	0,12.10 ⁻⁶	0,4.10 ⁻⁶ –1,3.10 ⁻³			
HMDE	0,007.10 ⁻⁶	0,3.10 ⁻⁷ –19.10 ⁻³			

DPV/P – diferenční pulzní voltametrie/polarografie, HMDE – visící rtuťová kapková elektroda, m-AgSAE - meniskem modifikovaná stříbrná tuhá amalgámová elektroda, p-AgSAE – leštěná stříbrná tuhá amalgámová elektroda

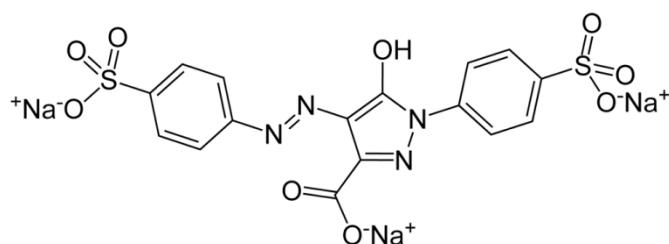
1.3.3. Azo skupina (-N₂-)

Hlavní skupinou látek obsahujících azoskupinu jsou azobarviva, která vynikají výraznými barvami díky delokalizaci elektronů π -vazeb. Azoskupina se v přírodních látkách nevyskytuje. V 19. století začala syntetická barviva nahrazovat barviva přírodní, především díky levnější výrobě, stálosti, velké barevné škále⁵¹ a možnosti větší produkce barviv⁸. Syntetická barviva včetně azobarviv jsou používána nejen v potravinářství, ale i ve farmacii a kosmetice^{52,8,53}. Používání potravinářských barviv je pro Českou republiku upraveno zákonem č. 110/1997 Sb. „O potravinách a tabákových výrobcích“ a vyhláškou Ministerstva zdravotnictví ČR č. 298/1997 Sb. Používání barviv jako potravinářských a kosmetických aditiv spadá také pod kontrolu Evropské komise (směrnice Evropského parlamentu a rady 94/36/ES). U některých azobarviv jsou prokázány nebo předpokládány nežádoucí účinky až genotoxicita (především při nadměrném užívání nebo užívání v nevhodné kombinaci). Také bylo zjištěno spojení s vrozenými novorozeneckými vadami⁸. Proto je důležité obsah těchto látek sledovat nejen v potravinách a nápojích. Nejpoužívanějšími metodami pro stanovení azobarviv jsou spektrometrické metody, kapalinová a plynová chromatografie a kapilární elektroforéza^{51,31}.

Elektrochemická redukce azoskupiny probíhá podle rovnice 10 a 11. Ve velmi kyselých roztocích o pH 3 a menším probíhají oba kroky redukce zároveň, přijetím 4 elektronů a 4 vodíkových kationtů^{7,8,55}. Azobarviva je možné elektrochemicky stanovit i ve směsi bez předchozí separace⁸.



1.3.3.1. Tartrazin (E102)



Obr. 3: Strukturní vzorec tartrazinu.

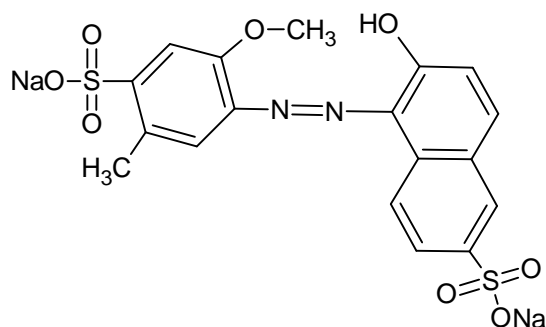
Tartrazin (potravinářská žlut') je žluté potravinářské barvivo (E102) rozpustné ve vodě. Je běžně používán jako barvivo v nápojích, cukrovinkách i v pekařství⁵⁴. Tartrazin obsahuje redukovatelnou azo skupinu. Lze ho, ale také elektrochemicky oxidovat^{52,57}. Tartrazin je spojovaný s alergickými projevy (především u lidí s citlivostí na aspirin), dětskou hyperaktivitou a astmatem⁵¹; je také potenciálním původcem kožních nádorů. V tabulce 4 jsou uvedeny některá elektrochemická stanovení tartrazinu.

Tab. 4: Příklady elektrochemického stanovení tartrazinu s uvedeným prostředím, limitem detekce a metodou stanovení.

elektroda	LOD (mol.l ⁻¹)	LDR (mol.l ⁻¹)	pH, prostředí	metoda	citace
nAu-CPE	2.10 ⁻⁹	5.10 ⁻⁸ – 1,6.10 ⁻⁶	pH 4, fosfátový pufr	DPV-oxidace	[51]
BDD	6,27.10 ⁻⁸	3,5.10 ⁻⁷ –9,1.10 ⁻⁶	H ₂ SO ₄ (0,1 mol.l ⁻¹)	DPV-redukce	- [31]
GCE polyallylamin	- 1,8.10 ⁻⁶	1.10 ⁻⁵ – 3.10 ⁻⁴	HCl (0,5 mol.l ⁻¹)	SWV-redukce	[55]
DME	2. 10 ⁻⁸	0,5.10 ⁻⁷ –7,5.10 ⁻⁶	pH 9,2, BR pufr	DPP-redukce	[8]
GCE -MWNT	1,88.10 ⁻⁷	-	pH 8, fosfátový pufr	DPV-oxidace	[56]
PGE - MWNT	0,93.10 ⁻⁶	3,7.10 ⁻⁶ –1,3.10 ⁻⁴	pH 5, 0,1 mol.l ⁻¹ fosfátový pufr	CV-redukce	- [54]

BDD – borem dopovaná diamantová elektroda, CV – cyklická voltametrie, DPV/P – diferenční pulzní voltametrie/polarografie, GCE- uhlíková skleněná elektroda, PGE – pyrolytická grafitová elektroda, MWNT – multy wall uhlíkové nano trubky, nAu-CPE – uhlíková pastová elektroda modifikovaná zlatými nanočásticemi, SWV - „square wave“ voltametrie

1.3.3.2. Červeň Allura (E129)



Obr. 4: Strukturní vzorec červeně allura.

Allurová červeň (E129) je další z používaných potravinářských barviv. Jedná se o červený prášek snadno rozpustný ve vodě. Tak jako u předchozího barviva je spojována s hyperaktivitou dětí a alergiemi. Allurová červeň je přidávána do nápojů, sladkostí, salámů i kosmetických výrobků. Dlouhodobější studie na krysách dokázaly, že při zvýšeném užívání červeně allura negativně ovlivňuje reprodukci a dochází k dřívějšímu výskytu rakoviny lymfatického systému. Přípustná denní dávka je 0-7 mg na 1 kg tělesné váhy. Maximální úroveň v nápojích 70 mg.l^{-1} , v jídle 290 mg.l^{-1} (cit. ⁵⁷). V tabulce 5 je uveden přehled elektrochemických metod stanovení červeně allura.

Tab. 5: Příklady elektrochemického stanovení červeně allura s uvedeným prostředím, limitem detekce a metodou stanovení.

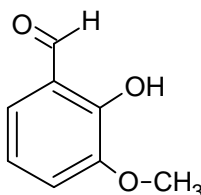
elektroda	LOD (mol.l^{-1})	LDR (mol.l^{-1})	pH, prostředí	metoda	citace
DME	$1,3 \cdot 10^{-8}$	$5 \cdot 10^{-8} - 7,5 \cdot 10^{-6}$	pH 9,2, BR pufr	DPP redukce	– [8]
MWNT	$5 \cdot 10^{-8}$		pH 7, fosfátový pufr	CV oxidace	– [53]
DME	$9,7 \cdot 10^{-8}$	$0-9,1 \cdot 10^{-6}$	pH 9,1, fosfátový pufr	DPP	- [7]
	$1 \cdot 10^{-7}$	$0-6 \cdot 10^{-6}$	$0,1 \text{ mol.l}^{-1} \text{KCl}$	redukce	
	$1,2 \cdot 10^{-7}$	$0-8,1 \cdot 10^{-6}$	$0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ cetrát sodný		

CV – cyklická voltametrie, DME – kapající rtuťová elektroda, DPP – diferenční pulzní voltametrie, MWNT – multy wall uhlíkové nanotrubky

1.3.4. Aromatické aldehydy (Ar-CHO)

Aldehydy jsou důležitou složkou vonných látek. Aldehydy se elektrochemicky redukují na alkoholy v záporných potenciálech na rtuťových elektrodách (kolem -1 V). Pro snížení redukčního potenciálu může být aldehyd převeden na hydrazon⁵⁸.

1.3.4.1. Vanilin



Obr. 5: Strukturní vzorec vanilinu.

Vanilin je aromatické aditivum, které se běžně přidává do nápojů a pochutin (především pudinky, zmrzlina, sušenky), případně do parfémů a kosmetiky. Je to hlavní aromatická složka orchidejí rodu vanilovník – nachází se ve vanilkových luscích. Vanilin byl získán z koniferinu v roce 1874 a v roce 1876 pak z guajakolu. Produkce vanilinu z přírodního zdroje je nedostačující, proto se vyrábí i synteticky z 2-metoxynolu, eugenolu a ligninu. Jeho výroba je levná, a proto je takto připravený vanilin hojně využíván. Jeho kvalita v potravinách se kontroluje⁵⁹. V rámci Evropské unie dohlíží na právní legislativu týkající se vonných látek Evropská komise (EC). Vanilin může způsobovat bolesti hlavy, nevolnost, zvracení, poškození funkce jater a ledvin^{60,61}. Vanilin se stanovuje převážně spektrometricky nebo chromatograficky. Voltametrické metody využívají častěji oxidaci aldehydu, než jeho redukci, viz přehled metod v tabulce 6. Voltametrické stanovení vanilinu redukcí není používáno. Druh produktů elektrochemické redukce vanilinu závisí především na složení základního elektrolytu. Bylo zjištěno, že ve velmi bazickém prostředí má sodíkový kationt elektrokatalytický efekt na redukci vanilinu, který se redukuje na hydrovanilin a vanilylalkohol na rtuťové elektrodě⁶².

Tab. 6: Příklady elektrochemického stanovení vanilinu s uvedeným prostředím, limitem detekce a metodou stanovení.

elektroda	LOD (mol.l ⁻¹)	LDR (mol.l ⁻¹)	pH, prostředí	metoda	citace
BDD	1,6.10 ⁻⁷	3,3.10 ⁻⁶ – 9,8.10 ⁻⁵	pH2,5 fosfátový pufr	SW-AdSV - oxidace	[59]
AuPd-grafen /GCE	2.10 ⁻⁷	0,1.10 ⁻⁶ – 7.10 ⁻⁶ 1.10 ⁻⁵ – 4.10 ⁻⁵	pH7, 0,1 mol.l ⁻¹ fosfátový pufr	DPV, LSV - oxidace	[60]
NGR-NCNTs/GCE	3,3.10 ⁻⁹	0,1.10 ⁻⁷ – 1.10 ⁻⁵	0,01 mol.l ⁻¹ H ₂ SO ₄	SWV - oxidace	[63]
Ag-NPs-grafen/	3,32.10 ⁻⁷	2.10 ⁻⁶ – 1.10 ⁻⁴	pH 6,98, 0,1 mol.l ⁻¹ fosfátový pufr	SWV - oxidace	[61]

DPV – diferenční pulzní voltametrie, GCE – elektroda ze skelného uhlíku, LSV – linear sweep voltametrie, NGR-NCNTs – dusíkem dopovaný grafen – uhlíkové nanotrubky, SW-AdSV – adsorpční square wave voltametrie, SWV - „square wave“ voltametrie

2. Experimentální část

2.1. Chemikálie

Pro přípravu základních elektrolytů byly použity následující chemikálie (čistota p.a.): kyselina sírová (Lach-Ner, Neratovice, ČR); Brittonův–Robinsonův a octanový pufr (hydroxid sodný, kyselina boritá, kyselina fosforečná a kyselina octová). Zásobní roztoky studovaných látek byly připraveny v deionizované vodě (Millipore, Billerica, MA, USA). Azidothymidin ($c = 1.10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$, Sigma-Aldrich), vanilin ($c = 1.10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$, čistota 99%, Sigma-Aldrich), červeň allura ($c = 1.10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$, čistota 80% Sigma-Aldrich), tartrazin ($c = 1.10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$ a $1.10^{-2} \text{ mol.l}^{-1}$, Sigma-Aldrich), 5-nitrochinolin ($c = 1.10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$, čistota 99%, Sigma-Aldrich), chinolin ($c = 1.10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$, Merck). Jako reálný vzorek pro stanovení azobarviv tartrazinu a allurové červeně ve směsi byla použita limonáda Mountain Dew – code red (PepsiCo., New Bern, North Carolina, USA).

2.2. Aparatura

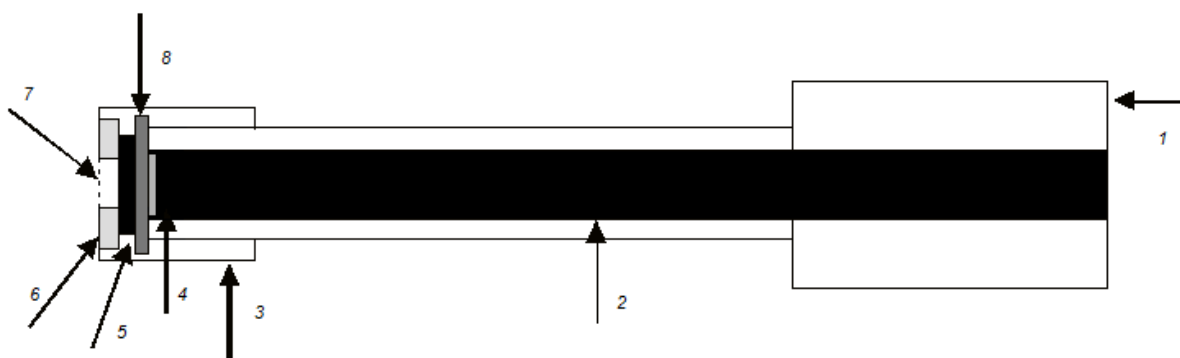
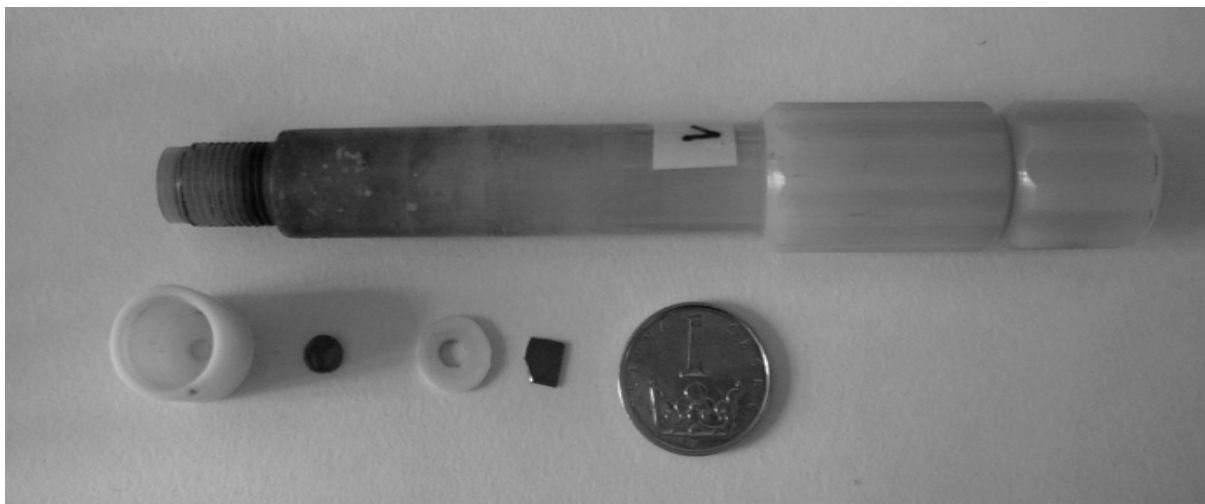
Elektrochemická měření byla prováděna na osobním počítačem řízeném voltametrickém analyzátoru Eco-Tribo Polarographse softwarem Polar-Pro verze 5.1 (Eco-Trend Plus, Praha, ČR). Pro měření bylo použito tříelektrodové zapojení. Jako referentní elektroda byla použita argentchloridová elektroda ($3 \text{ mol.l}^{-1} \text{KCl}$), elektroda pomocná byla platinová drátková (obě Elektrochemické detektory, Turnov, ČR) a jako pracovní elektrody byly použity borem dopované diamantové filmové elektrody, které jsou popsány dále v kapitole 2.2.1. Pro přesné měření pH tlumivých roztoků byl použit digitální pH-metr Jenway4330 (Jenway Essen, Velká Británie) s kombinovanou skleněnou elektrodou (typ 924 005). pH-metr byl kalibrován standardními vodnými pufrý (Sevac, Praha, ČR) za laboratorní teploty.

Pro spektrální charakterizaci povrchu diamantového filmu byla použita Ramanova spektroskopie (DXR Raman microscope (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) s mikroskopem Olympus, excitační vlnová délka 532 nm) a mikroskopie atomárních sil (NT-MDT NTEGRA Prima AFM s křemíkovým ohebným nosníkem HA-NC, rezonanční frekvence 270 kHz).

2.2.1. Borem dopované diamantové elektrody

Byly použity borem dopované diamantové filmové elektrody s odlišnou koncentrací bóru, které byly připraveny ve Fyzikálním ústavu Akademie věd České republiky v Oddělení funkčních materiálů. BDD filmy byly připraveny chemickou depozicí par s mikrovlnným ohřevem (MPCVD) v komerčně dodávaném reaktoru (SekiASTeX 5010, Woburn, MA, USA). Jako substrát pro depozici diamantového filmu byl zvolen p-křemík od firmy ON Semiconductor (Rožnov pod Radhoštěm, ČR) s rezistivitou přibližně $0,005 \text{ ohm.cm}^{-1}$ a tloušťkou $300 \text{ }\mu\text{m}$. Pro depozici byla použita směs methanu, vodíku a trimethylboru. Poměr boru a uhlíku v reakční směsi (B/C) byl měněn; celkem bylo připraveno pět filmů s hodnotou poměru B/C 500 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm, 4000 ppm a 8000 ppm. Tloušťka diamantového filmu byla $1 \text{ }\mu\text{m}$. Křemíkové desky s deponovaným BDD filmem byly pro analytické použití nařezány na čtverce o velikosti cca $0,25 \text{ cm}^2$. Tyto destičky byly umísťovány do teflonového těla, které je schematicky znázorněno a vyfotografováno na obr. 6. Geometrická aktivní plocha elektrody vymezená otvorem

v teflonovém šroubovacím nástavci měla velikosti $5,72 \text{ mm}^2$, což odpovídá průměru ústí elektrody, které je 2,7 mm.



Obr. 6: Schéma a fotografie BDD elektrody, (1) teflonové tělo, (2) elektrický kontakt, (3) šroubovací nástavec, (4) mosazný plíšek, (5) BDD film na křemíkové podložce, (6) těsnění z Vitonu®, (7) ústí elektrody, (8) mosazná lamela

2.3. Pracovní postupy

Voltametrická měření byla provedena v měřící nádobce pomocí borem dopované diamantové elektrody s poměrem B/C 4000 ppm, pokud není uvedeno jinak. Zásobní roztoky o požadované koncentraci byly pro samotné měření smíchány se základním elektrolytem v poměru 1:9, pokud není uvedeno jinak. Pro většinu měření byl jako základní elektrolyt použit Brittonův - Robinsonův pufr o různém pH. Před každou sérií měření byla provedena předpříprava BDD elektrody v roztoku kyseliny sírové o koncentraci $0,5 \text{ mol.l}^{-1}$ s vloženým kladným nebo záporným potenciálem po dobu 5-ti nebo 10-ti minut, podle požadované anodické/katodické předpřípravy. Stejný typ

předpřípravy elektrody byl použit i při změně pH základního elektrolytu, ale pouze po dobu 2 minut. Pro diferenční pulzní voltametrii byla použita výška pulsu -50 mV , šířka pulsu 80 ms a rychlost polarizace 20 mV.s^{-1} . Pro DC voltametrii byla použita rychlost polarizace elektrody 50 mV.s^{-1} . Cyklické voltamogramy byly zaznamenávány s rychlostí polarizace elektrody 100 mV.s^{-1} , pokud není uvedeno jinak.

Pro stanovení 5-nitrochinolinu byl po optimalizaci podmínek zvolen jako základní elektrolyt: $0,1\text{ mol.l}^{-1}$ octanový pufr, pH 5,0.

Pro stanovení azobarviv byla základním elektrolytem $0,1\text{ mol.l}^{-1}$ kyselina sírová. Zásobní roztok směsi potravinářských azobarviv o koncentraci $1.10^{-3}\text{ mol.l}^{-1}$ byl připraven v 1 mol.l^{-1} kyselině sírové. Kalibrační roztoky směsi tartrazinu a allurové červeně v matrici limonády o celkovém objemu $10,0\text{ ml}$ byly připraveny smícháním $9,0\text{ ml}$ limonády a $1,0\text{ ml}$ 1 mol.l^{-1} kyseliny sírové s požadovaným množstvím směsi barviv (viz tabulka 7), tj. výsledná koncentrace kyseliny sírové byla $0,1\text{ mol.l}^{-1}$. Koncentrace barviv v limonádě byla stanovena metodou standardního přídatku směsi barviv. Po měření reálného vzorku limonády byla elektroda vždy očištěna v ultrazvukové lázni v metanolu.

K vytvoření grafů a dalšímu zpracování záznamů byl použit program Origin-Pro8 (Northampton, MA, USA). Meze stanovitelnosti a detekce byly vypočítány jako deseti a trojnásobek směrodatné odchylky výšky píku z deseti měření nejnižší vyhodnotitelné koncentrace stanovované látky dělený směrnici kalibrační závislosti.

Tab. 7: Tabulka s objemy použitých roztoků pro měření kalibrační závislosti.

koncentrace tartrazinu a allurové červeně	objem (ml)		kyselina sírová ($c = 1\text{ mol.l}^{-1}$)
	limonáda	směs barviv ($c = 1.10^{-3}\text{ mol.l}^{-1}$) v 1 mol.l^{-1} kyselině sírové	
0	9,0	0	1
1.10^{-5}	9,0	0,10	0,90
$2,5.10^{-5}$	9,0	0,25	0,75
5.10^{-5}	9,0	0,50	0,50
$7,5.10^{-5}$	9,0	0,75	0,25
1.10^{-4}	9,0	1	0

3. Výsledky a diskuze

3.1. Charakterizace borem dopované diamantové elektrody

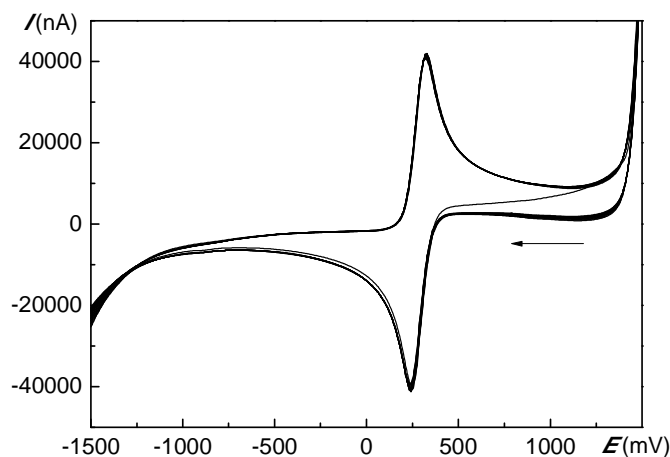
Borem dopované diamantové elektrody mohou být charakterizovány různými metodami, jak je popsáno v kapitole 1.2.2. Elektrochemická charakteristika BDD filmů s hodnotou poměru B/C 500 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm, 4000 ppm a 8000 ppm s využitím redoxních markerů $[(\text{Fe}(\text{CN})_6)]^{3-/4-}$ a $[(\text{Ru}(\text{NH}_3)_6)]^{3+/4+}$ je uvedena v bakalářské práci²⁴. Bylo zjištěno, že BDD elektrody 500 ppm a 1000 ppm vykazují polovodičový typ vodivosti, zatímco elektrody 2000 – 8000 ppm kovový typ vodivosti^{24,64}.

V této diplomové práci byla převážně používána BDD elektroda 4000 ppm. Na obr. 7 jsou cyklické voltamogramy redoxního systému $[(\text{Fe}(\text{CN})_6)]^{3-/4-}$ před začátkem všech experimentů. Redukční i oxidační pík komplexu vykazoval opakovatelnost výšky píku s relativní směrodatnou odchylkou menší než 1,5 %, vypočítáno z 10 cyklů. Rozdíl potenciálů anodického a katodického píků byl 83 mV a poměr jejich výšek byl 1,02. Z těchto hodnot je zřejmé, že redoxní systém $[(\text{Fe}(\text{CN})_6)]^{3-/4-}$ vykazuje na použité borem dopované diamantové elektrodě quazireverzibilní chování.

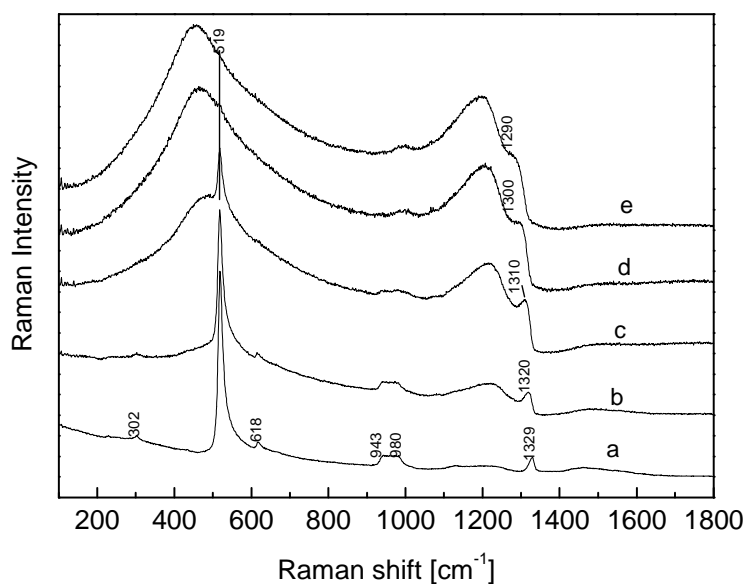
Ramanova spektroskopie je metoda citlivá na přítomnost sp^2 uhlíkových nečistot v BDD filmu a lze tak porovnávat jejich kvalitu. Na obr. 8 jsou uvedena Ramanova spektra pro 500 ppm – 8000 ppm BDD filmy, z nichž můžeme vyčíst, že použité diamantové filmy neobsahují grafitický uhlík, jehož přítomnost by se ve spektru objevila v oblasti 1500 cm^{-1} . Dále jsou vidět odezvy křemíkové podložky, které jsou v oblasti 520 cm^{-1} a 940 cm^{-1} až 980 cm^{-1} . Signál při $1332 - 1290 \text{ cm}^{-1}$ odpovídá diamantové sp^3 formě uhlíku. Je zřejmé, že s rostoucí koncentrací boru se tento signál posouvá k nižším vlnočtům a mění se jeho tvar – pro vyšší koncentrace boru vykazuje tvar typický pro Fanovy resonance poukazující na přítomnost delokalizovaných stavů pocházejících z B-C vazeb. Původ širokých pásů u $\sim 420 \text{ cm}^{-1}$ a $\sim 1220 \text{ cm}^{-1}$ je nejasný⁶⁵.

Morfologie diamantového filmu se mimo jiné zjišťuje pomocí mikroskopie atomárních sil (AFM), jejíž záznam je pro diamantový film 4000 ppm uveden na obr. 9. Z AFM bylo zjištěno, že použité diamantové filmy mají nanokrystalickou strukturu –

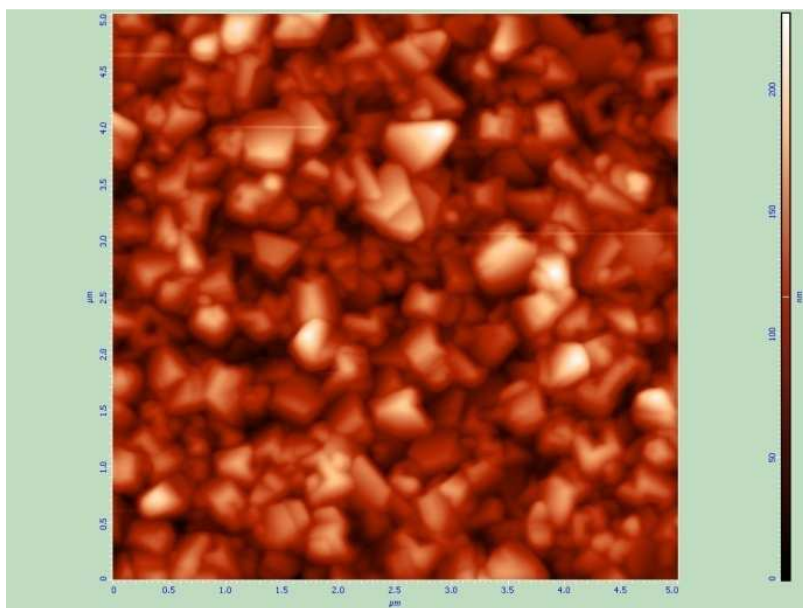
velikost krystalů 100 až 300 nm. Dále byla určena tloušťka diamantového filmu, která je 1 mikrometr a tloušťka křemíkového substrátu, která je 300 mikrometrů.



Obr. 7: Cyklické voltamogramy modelového redoxního systému $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ($c = 1 \cdot 10^{-2} \text{ mol.l}^{-1}$) v prostředí 1 mol.l^{-1} KCl s anodickou předpřípravou BDD elektrody (B/C = 4000 ppm) v $0,5 \text{ mol.l}^{-1}$ kyselině sírové s vloženým potenciálem +2,4V po dobu 5ti minut.



Obr. 8: Ramanova spektra používaných borem dopovaných diamantových filmů při vlnové délce excitace 532 nm: 500 ppm (a), 1000 ppm (b), 2000 ppm (c), 4000 ppm (d), 8000 ppm (e).

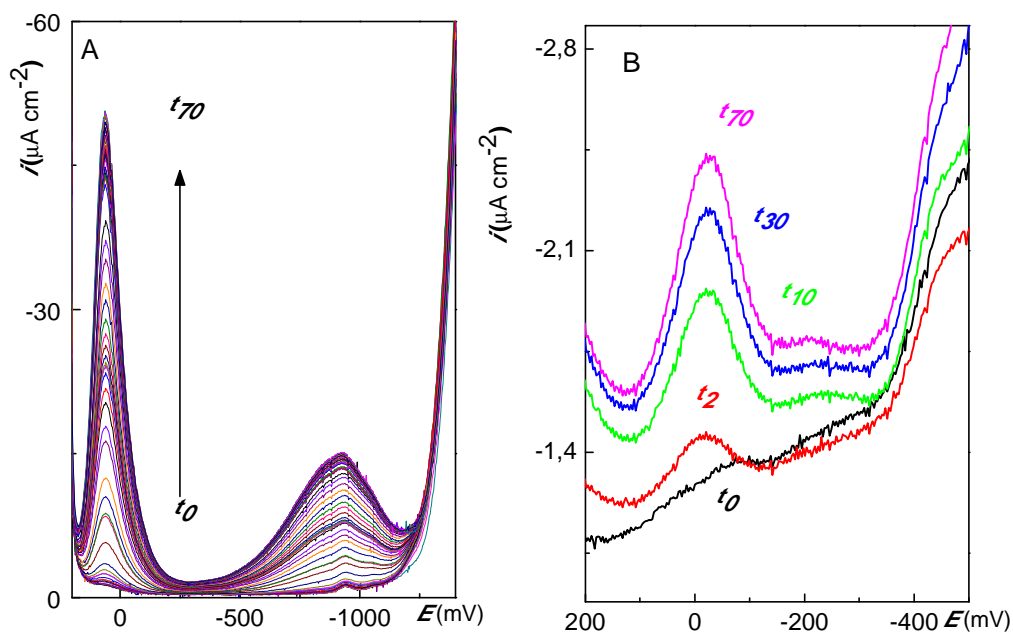


Obr. 9: Záznam z AFM povrchu borem dopovaného diamantového filmu s poměrem boru a uhlíku 4000 ppm (5 x 5 μm).

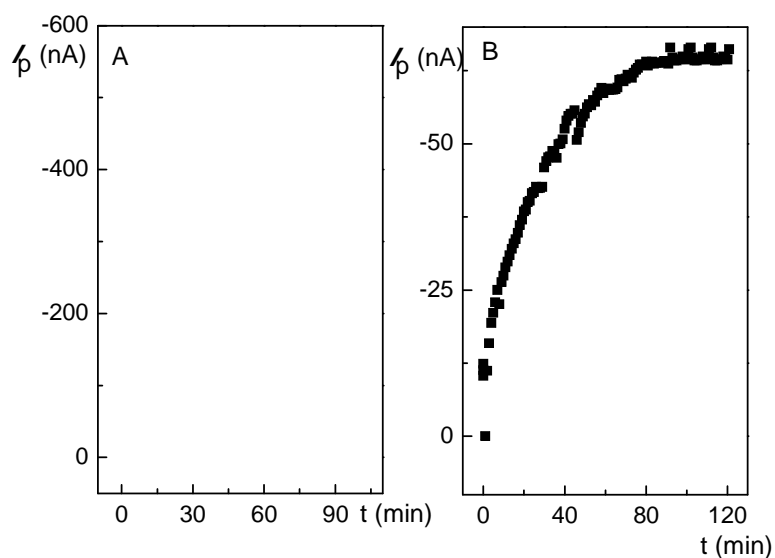
3.2. Studium redukce kyslíku na BDD elektrodě

Polarografická a voltametrická měření v katodické oblasti jsou komplikována redukcí kyslíku rozpuštěného v základních elektrolytech. Kyslík je proto zpravidla z roztoků před vlastním měřením odstraňován, nejčastěji probubláním dusíkem. Vzhledem k uváděné nižší citlivosti BDD elektrod k redukcí kyslíku byla citlivost této elektrody na přítomnost kyslíku porovnávána s citlivostí visící rtuťové kapkové elektrody (HMDE). Na obr. 10 jsou znázorněny DP voltamogramy octanového pufru o pH 5,0 měřeného borem dopovaným diamantovým filmem a HMDE. Roztok neobsahující rozpuštěný kyslík (voltamogram označený jako t_0) byl měřen po dobu 70ti minut – dokud odezva redukce kyslíku nebyla srovnatelná s odezvou před odstraněním kyslíku z roztoku (voltamogramy t_{70}). Tento roztok byl syčen kyslíkem z okolní atmosféry. Na obr. 11 je znázorněna výška píku redukce kyslíku na čase měření. Dvojstupňová redukce kyslíku nejprve na peroxid vodíku a poté až na vodu je zřejmá u obou elektrod. BDD elektroda byla do 25 minut více citlivá k redukcí kyslíku; v této době došlo na HMDE k minimálnímu nárůstu výšky píku. Nicméně celkově vykazuje BDD elektroda asi 25x menší citlivost k redukcí kyslíku než elektroda rtuťová.

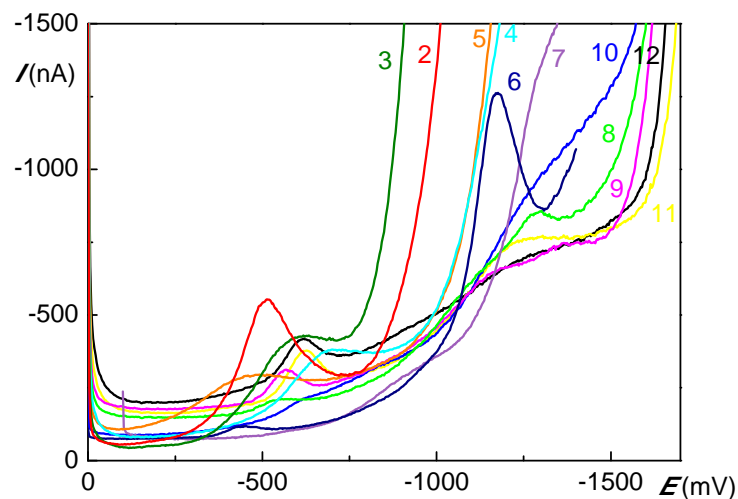
Dále byla na BDD elektrodě zjišťována poloha signálů kyslíku v závislosti na pH roztoku. Na obr. 12 jsou uvedeny diferenční pulzní voltamogramy BR pufru o pH 2,0 – 12,0 bez odstranění kyslíku z roztoku. Z DP voltamogramů na obr. 12 a závislosti výšky a polohy redukčních píků kyslíku na pH (obr. 13) je vidět, že první redukční pík kyslíku se vyskytuje v celém rozsahu pH v oblasti potenciálů -440 mV až -720 mV. Nejvýraznější jev kyselých prostředích. V neutrálních až zásaditých prostředích jsou viditelné oba píky odpovídající dvoukrokové redukci kyslíku na vodu díky širšímu potenciálovému oknu BDD elektrody. V oblasti pH 9,0 – 12,0 je pík odpovídající redukci peroxidu vodíku na vodu široký a v oblasti úniku základního elektrolytu.



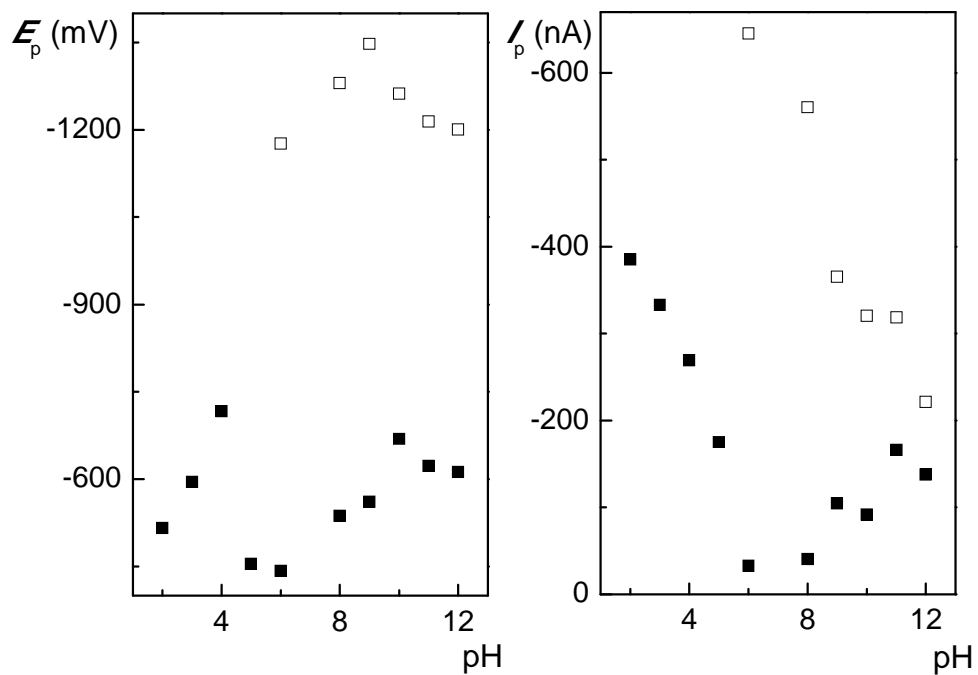
Obr. 10: Diferenční pulzní voltamogramy v $0,1\text{mol.l}^{-1}$ octanovém pufru, pH 5,0 na (A) HMDE a (B) BDD elektrodě (4000ppm). Voltamogramy zaznamenány v čase t_0 (min) v roztoku neobsahujícím rozpuštěný kyslík a následně po umožnění přístupu vzduchu k roztoku kontinuálně po dobu 70 min (voltamogram t_{70}) při rychlosti polarizace 20 mV.s^{-1} .



Obr. 11: Závislost výšky píku redukce kyslíku I_p na (A) HMDE a (B) BDD elektrodě na čase měření. Vyhodnoceno z DP voltamogramů měření citlivosti elektrody na redukci kyslíku.



Obr. 12: Diferenční pulzní voltamogramy BR pufru o pH 2,0 – 12,0 bez odstranění kyslíku z roztoku. Označení křivky odpovídá hodnotě pH pufru.



Obr. 13: Závislost potenciálů E_p výšek píků I_p redukce kyslíku na BDD elektrodě (4000 ppm) z DP voltamogramů (obr. 12) v BR pufru o pH 2,0 – 12,0.

3.3. Elektrochemická redukce 5-nitrochinolinu na BDD elektrodě

Při studiu elektrochemické redukce 5-nitrochinolinu na BDD elektrodě byla nejprve provedena optimalizace podmínek měření, která zahrnovala studii vlivu pH prostředí na voltamogramy 5-nitrochinolinu v přítomnosti a nepřítomnosti kyslíku a dále optimalizaci elektrochemické předpřípravy elektrody a aktivace elektrodového povrchu mezi jednotlivými scany. Po určení optimálních podmínek stanovení 5-nitrochinolinu byla změřena kalibrační závislost a závislost na rychlosti polarizace elektrody pro určení mechanismu elektrodové reakce a charakteru rychlosti určující elektrodové reakce. 5-nitrochinolin obsahuje elektrochemicky redukovatelnou nitroskupinu a chinolinový skelet.

3.3.1. Optimalizace podmínek pro stanovení 5-nitrochinolinu

3.3.1.1. Vliv pH na voltamogramy 5-nitrochinolinu

Optimalizace podmínek pro stanovení 5-nitrochinolinu byla provedena na borem dopované diamantové elektrodě o poměru boru a uhlíku v plynné fázi při depozici 4000 ppm. Nejprve byl studován vliv pH na elektrochemickou redukci 5-nitrochinolinu o koncentraci $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ v prostředí BR pufru o pH 2,0 – 12,0. Vybrané DC voltamogramy a DP voltamogramy v přítomnosti a nepřítomnosti kyslíku jsou znázorněny na následujícím obr. 14 a odpovídající závislosti výšky píku na pH je na obr. 15. Dále je v práci uvedena pH závislost potenciálu píku 5-nitrochinolinu na obr. 16. Voltamogramy z obr. 17 znázorňují redukci 5-nitrochinolinu a chinolinu.

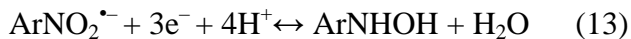
Z DC voltamogramů (obr. 14, A) je zřejmé, že odezva 5-nitrochinolinu v zásaditém prostředí je špatně odečitatelná. Z obr. 14 a obr. 15 je vidět, že nejvyšší proudová odezva prvního píku 5-nitrochinolinu při použití diferenční pulzní voltametrie byla v zásaditém prostředí. To je v souladu se studiemi elektrochemické redukce jiných nitro derivátů aromatických sloučenin pomocí elektrod na bázi rtuti^{44,43,46}. První pík odpovídá redukci nitroskupiny na hydroxylamin, viz rovnice 4 v kapitole 1.3.1 v úvodní části práce. V rozmezí pH 2,0 – 5,0 lze jeho posun s pH charakterizovat rovnicí: $E_p \text{ (mV)} = -85,52\text{pH} - 31,02$ ($R = 0,994$). V oblasti pH 6,0 – 9,0 již není posun píku k negativním potenciálům s rostoucí hodnotou pH tak zřetelný. Pro pH 10,0 – 12,0 je potenciál píku na pH nezávislý, což souvisí se změnou mechanismu redukce nitroskupiny (viz níže). U redukce nitroaromátů dochází někdy v kyselých oblastech

k následné redukci vzniklého hydroxylaminu na amin, pro 5-nitrochinolin byl signál odpovídající této redukci pozorován na amalgamové elektrodě a rtuťové elektrodě v rozsahu pH 3,0 – 5,0 (cit. ⁴³). Na BDD elektrodě však nebyl v kyselých oblastech další pík zaznamenán.

Třetí pík, který je v pH závislosti na Obr. 16 znázorněn plným kolečkem a ve voltamogramech se objevuje v zásaditých prostředích, odpovídá redukci chinolinového skeletu. V neutrálních až zásaditých prostředích se ke konci potenciálového okna v rozmezí potenciálů –790 mV až –1320 mV objevuje jeden až dva píky, jak je vidět na voltamogramech na obr. 14 a z pH závislosti na obr. 15. Jelikož chinolinový skelet je redukovatelný na rtuťových a amalgámových elektrodách⁴⁰, kdy jeho redukce může probíhat ve dvou stupních (viz rovnice 6 a 7 v úvodní kapitole 1.3.1.1.), byly porovnány DP voltamogramy 5-nitrochinolinu a chinolinu v prostředí Brittonova–Robinsonova pufru pH 9,0 (viz obr. 17): Zatímco chinolin vykazuje pouze jeden redukční pík chinolinového skeletu při potenciálu –1183 mV, pro 5-nitrochinolin je patrná dvoustupňová redukce při potenciálech –1117 mV a –1255 mV zřejmě vlivem záporného izomerního i indukčního efektu nitroskupiny. První katodický pík 5-nitrochinolinu u –550 mV odpovídá redukci nitroskupiny. Dva redukční píky na konci potenciálového okna, které byly připsány redukci chinolinového skeletu, se objevovaly i při stanovení 5-nitrochinolinu na amalgamové elektrodě v rozsahu pH 7,0 až pH 12,0 (cit. ⁴⁰). V rozmezí pH 2 – 6 není redukce chinolinu na BDD elektrodě viditelná. Pravděpodobně je to způsobeno kratšímu potenciálovým oknem v kyselých prostředích. Totéž platí pH 10,0 – 12,0 (viz obr. 16)

V těchto zásaditých prostředích dochází zřejmě k dvoustupňové redukci nitroskupiny na hydroxylamin, kdy po hlavním redukčním píku nitroskupiny následuje výrazně nižší pík (v obr. 16 označen prázdným kolečkem). V tomto případě se zřejmě jedná o dvoustupňovou redukci nitroskupiny, která byla v mírně zásaditých až zásaditých oblastech pH popsána např. pro 5-nitrochinolin, 6-nitrochinolin⁴⁰, 1-nitronaftalen a 2-nitronaftalen na amalgámových elektrodách⁴³. Čtyř elektronová redukce nitroskupiny je nejspíše rozdělena do první rychlé jednoelektronové redukce

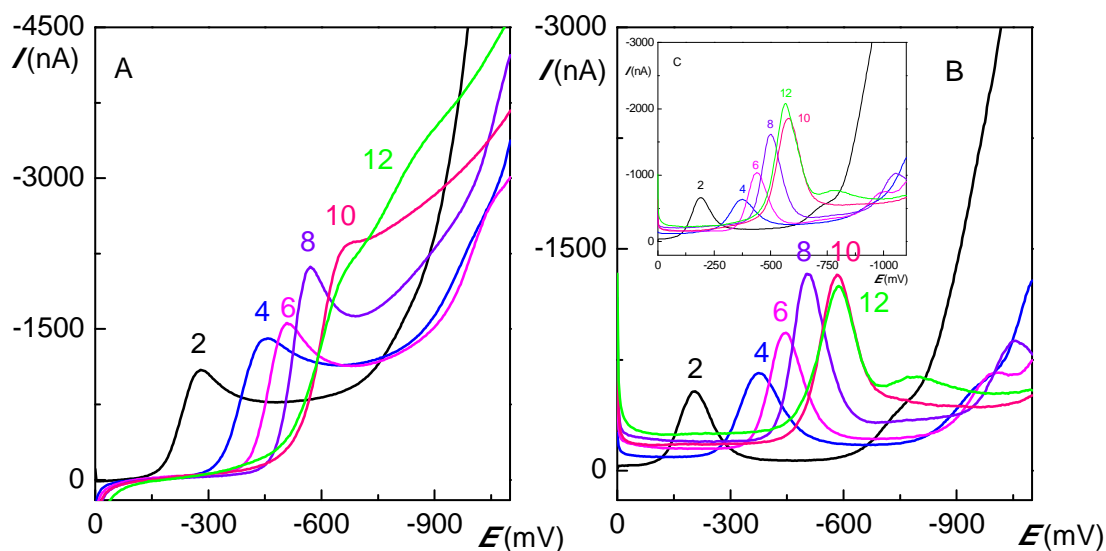
na nitroradikálanion ($\text{ArNO}_2^{\bullet-}$), který se dále redukuje třielektronově na hydroxylamin⁴⁰, viz rovnice 12 a 13.



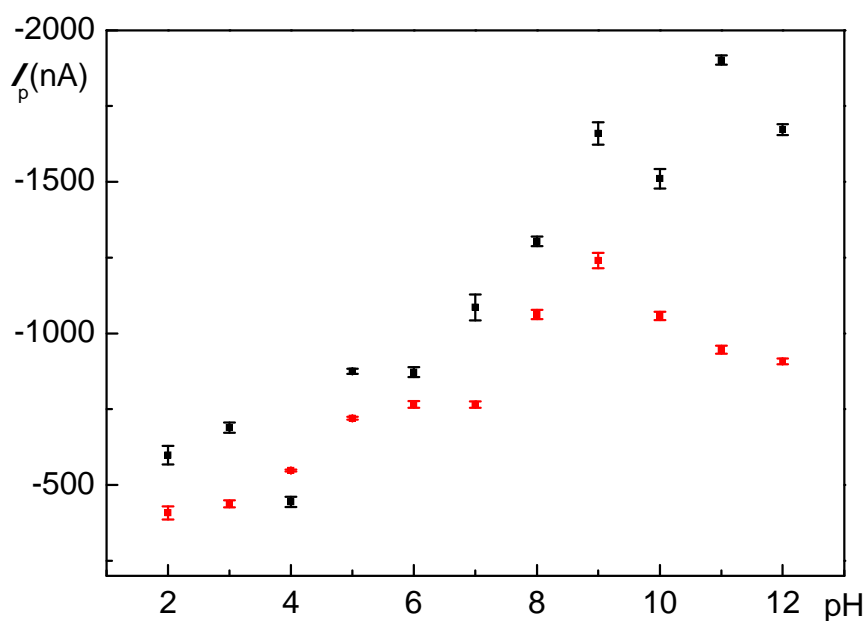
Je známo, že tato dvoustupňová redukce se vyskytuje častěji na pevných elektrodách v zásaditých prostředích či obecně v nevodných prostředích, kdy je inhibován přenos protonů umožňující následnou redukci vzniklého nitroradikálaniontu. Na rtuťových elektrodách tak byla sledována dvoustupňová redukce nitroskupiny u mnoha aromatických nitroderivátů v nevodných roztocích^{40,44} a naopak nebyla pozorována ve vodných zásaditých prostředích díky hladkému povrchu rtuť⁴⁶.

Vliv přítomnosti kyslíku na stanovení 5-nitrochinolinu je zřejmý z pH závislosti výšek redukčních píků nitroskupiny a z DP voltamogramů na obr. 14. Je zřejmé, že roztoky s odstraněným kyslíkem vykazují menší proudovou odezvu než ty, kde kyslík odstraněn nebyl. Přítomnost kyslíku na redukční potenciál (E_p) 5-nitrochinolinu nemá vliv, ale ovlivňuje výšku proudu píku (I_p), jak je dále vidět z pH závislosti na obr. 15 a DP voltamogramů na obr. 14 (B), kde jsou uvedeny voltamogramy měřené v přítomnosti a bez přítomnosti kyslíku v roztoku BR pufru o různých pH. Nejvíce se liší hodnoty výšek píků z měření v přítomnosti a bez kyslíku v zásaditých roztocích pH 9,0 až pH 12,0. Na výšku ostatních katodických píků ani na jejich opakovatelnost nemá přítomnost kyslíku tak významný vliv, způsobuje nárůst proudu o ca 10 – 30 %.

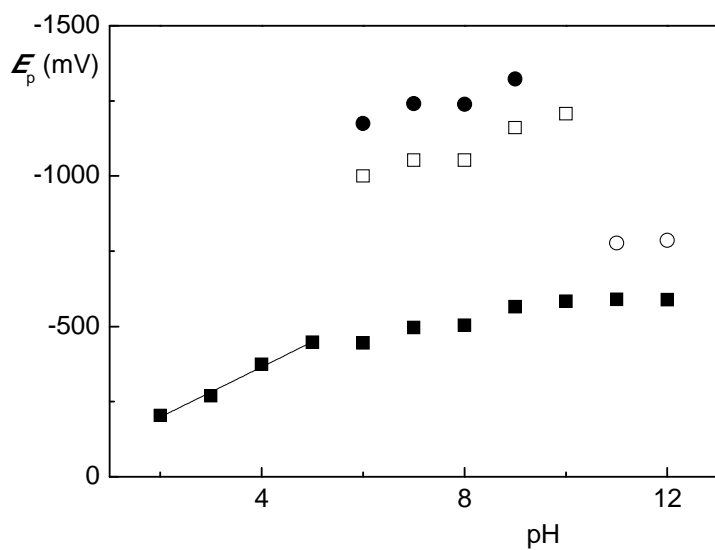
Jako optimální pH pro stanovení 5-nitrochinolinu bylo zvoleno pH 5,0, kdy nedochází k dvoustupňové redukci nitroskupiny ani k redukci chinolinového skeletu. Potenciál redukčního píku nitroskupiny v pH 5,0 leží zhruba uprostřed potenciálového okna. Pro další měření byl BR pufr nahrazen 0,1 mol.l⁻¹ octanovým pufrem.



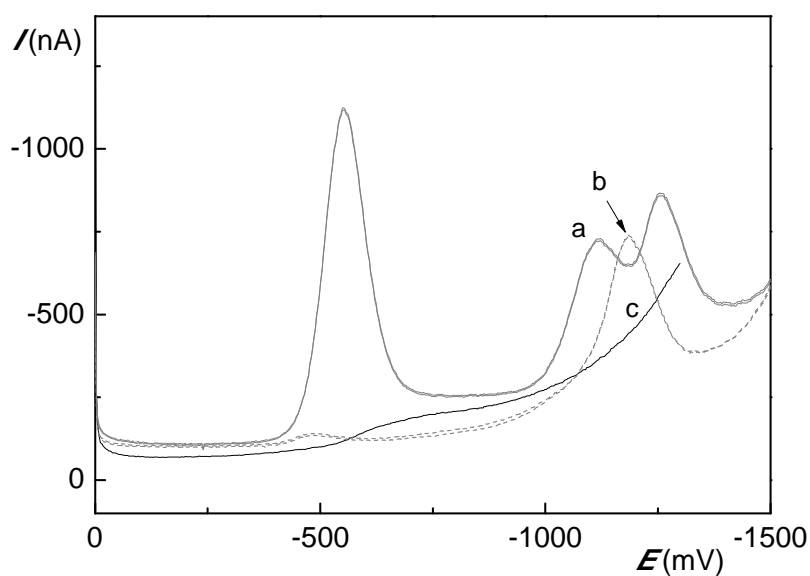
Obr. 14: (A) DC voltamogramy v nepřítomnosti kyslíku a DP voltamogramy (B) v nepřítomnosti a (C) přítomnosti kyslíku pro 5-nitrochinolin ($c = 1.10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v BR pufru o pH 2,0 – 12,0. Číslo u voltamogramu udává pH pufru.



Obr. 15: Závislost výšky píku I_p 5-nitrochinolinu ($c = 1.10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na pH BR pufru (pH 2,0 – 12,0). Měřeno metodou DP voltametrie v přítomnosti (■) a bez přítomnosti (■) kyslíku. Chybové úsečky znázorňují směrodatné odchylky měření ($n = 7$).



Obr. 16: Závislost potenciálu pík E_p 5-nitrochinolinu ($c = 1.10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na pH roztoku BR pufru (pH 2,0 – 12,0). Vyhodnoceno z DP voltamogramů. První pík (■), druhý pík (□), třetí pík (●), čtvrtý pík (○).

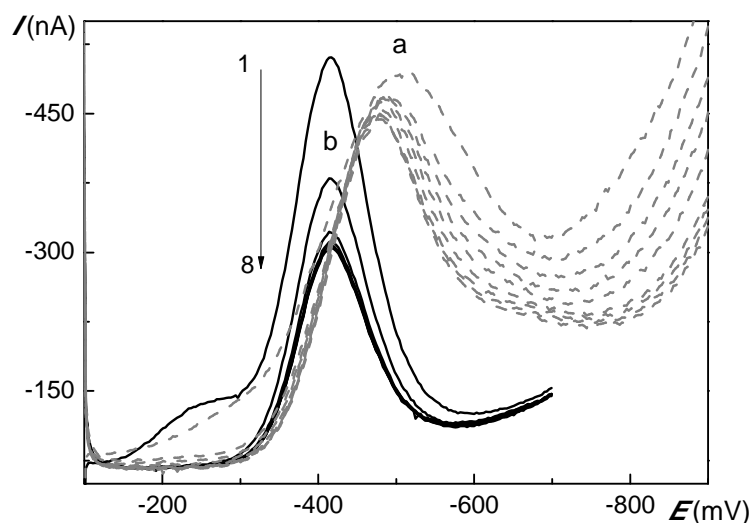


Obr. 17: Diferenční pulzní voltamogramy 5-nitrochinolinu (a) a chinolinu (b) (obě látky o koncentraci $1.10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 9,0 (c).

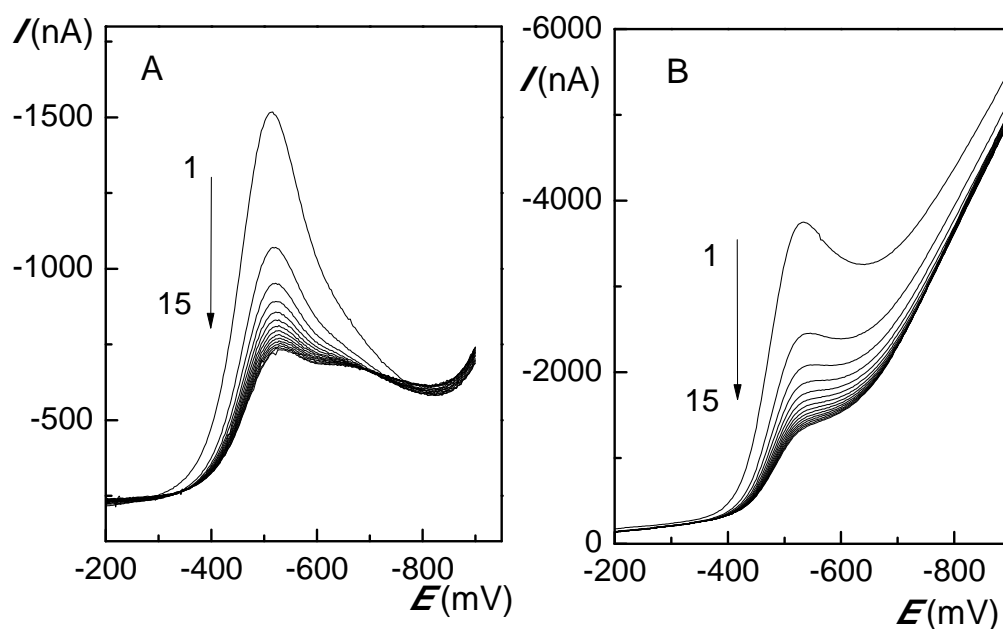
3.3.1.2. Vliv předpřípravy, elektrochemické a mechanické aktivace elektrodového povrchu

Pro zjištění vlivu předpřípravy elektrodového povrchu borem dopovaného diamantového filmu na elektrochemickou redukci 5-nitrochinolinu byly použity dva způsoby – katodická a anodická předpříprava. V obou případech byla elektroda ponořena do roztoku $0,5 \text{ mol.l}^{-1}$ kyseliny sírové; pro anodickou předpřípravu po dobu 5 minut s vloženým potenciálem $+2,4 \text{ V}$ a pro katodickou předpřípravu po dobu 10 minut při $-2,4 \text{ V}$. Ze zaznamenaných DP voltamogramů na obr. 18 je vidět posun redukčního potenciálu 5-nitrochinolinu při katodické předpřípravě elektrody o téměř $+100 \text{ mV}$ a dále pozdější ustálení proudové odezvy redukce nitro skupiny než u předpřípravy anodické. Dále byla věnována pozornost aktivaci BDD elektrody mezi jednotlivými scany, jelikož bez ní dochází k výrazné pasivaci elektrodového povrchu (pokles proudu o 900 mV u DP a o 2600 mV u DC voltametrie v průběhu 15ti následných měření, viz DC a DP voltamogramy na obr. 19). Byly vyzkoušeny tři typy aktivace elektrody: aktivace pomocí vkládaného kladného nebo záporného potenciálu E_k a aktivace pouhým mícháním roztoku, vždy pro katodickou i anodickou předpřípravu elektrody. Zaznamenané DC voltamogramy jsou na obr. 20 a parametry píku (potenciál, výška píku a RSD) pro 10 opakovaných měření jsou shrnuty v tabulce 8. V případě vloženého kladného potenciálu $+2,4 \text{ V}$ nebyl 5-nitrochinolin následně detekován, zřejmě kvůli oxidaci chinolinového skeletu, což je vidět na zmíněném obr. 20 kde jsou uvedeny DC voltamogramy s různou aktivací elektrodového povrchu borem dopovaného diamantu. V tabulce tak nejsou uvedeny hodnoty potenciálu a výšky píků pro měření s aktivací elektrody pomocí vloženého kladného potenciálu. Z DC voltamogramů i z hodnot uvedených v tabulce je zřejmé, že pro katodicky i anodicky předpřípravenou BDD elektrodu je vhodné použít mechanické čištění elektrodového povrchu mezi scany. Relativní směrodatná odchylka měření s tímto druhem aktivace elektrodového povrchu pro oba druhy předpřípravy byla menší než 7% pro obě použité elektrochemické metody stanovení.

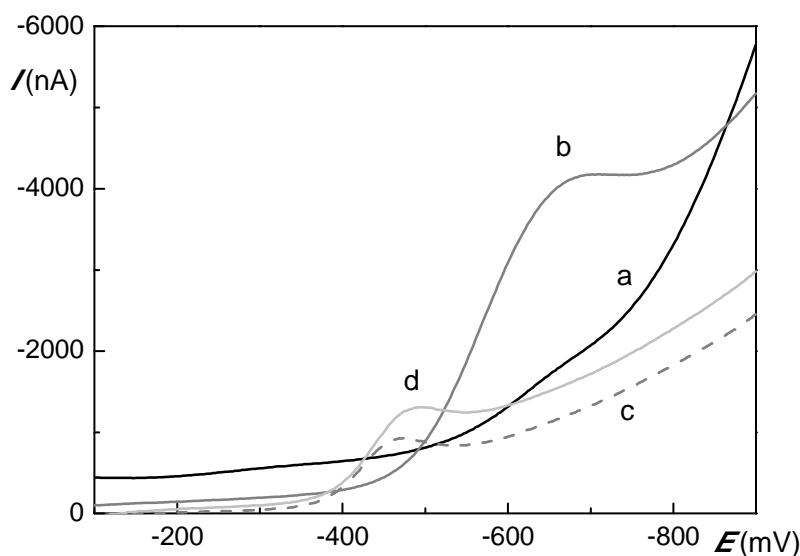
Jako optimální předpříprava elektrody byl zvolen katodický typ, tedy předpříprava v $0,5 \text{ mol.l}^{-1}$ kyselině sírové s vloženým potenciálem $-2,4 \text{ V}$ po dobu pěti minut. Optimální aktivací elektrody mezi scany bylo zvoleno 20 sekundové míchání roztoku.



Obr. 18: Osm následných diferenčních pulzních voltamogramů 5-nitrochinolinu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ octanovém pufru pH 5,0 s použitím různé předpřípravy elektrody v kyselině sírové s vloženým kladným nebo záporným potenciálem: (a) anodická předpříprava (5 min, +2,4 V), (b) katodická předpříprava (10 min, -2,4 V).



Obr. 19: (A) DP a (B) DC voltamogramy 5-nitrochinolinu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v BR pufru o pH 5,0, bez aktivace elektrodového povrchu mezi scany.



Obr. 20: DC voltamogramy 5-nitrochinolinu ($c = 1.10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v BR pufru o pH 5,0 s různým typem předpřípravy a aktivace elektrodového povrchu: (a) 20 s s vloženým potenciálem +2,4 V (anodická předpříprava), (b) 20 s míchání (anodická předpříprava), (c) 20 s s vloženým potenciálem -2,4 V (katodická předpříprava), (d) 20 s míchání (katodická předpříprava).

Tab. 8: Hodnoty potenciálů píků E_p a výšek píků I_p z DP a DC voltamogramů 5-nitrochinolinu ($c = 1.10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) zaznamenaných s katodickou / anodickou předpřípravou elektrody a různým typem aktivace elektrodového povrchu mezi scany (míchání nebo vložení záporného potenciálu $E_k = -2,4 \text{ V}$), doba aktivace vždy 20 s. Hodnoty z 10ti měření.

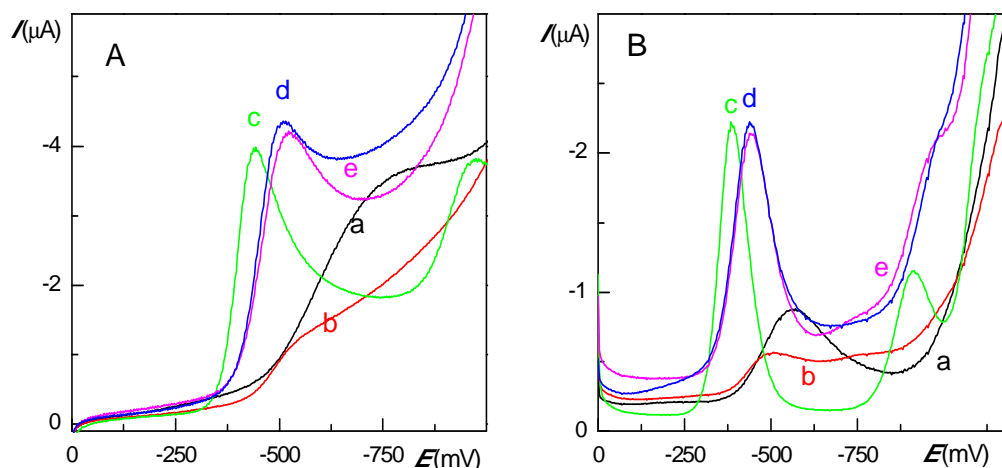
Aktivace mezi scany	DCV			DPV		
	$-E_p \text{ (mV)}$	$-I_p \text{ (nA)}$	RSD	$-E_p \text{ (mV)}$	$-I_p \text{ (nA)}$	RSD
Katodická předpříprava v $0,5 \text{ mol.l}^{-1}$ kyselině sírové -2,4V, 10 minut						
míchání	$484,2 \pm 0,4$	$1092,8 \pm 71,2$	6,5 %	$411,4 \pm 2,1$	$818,6 \pm 3,8$	0,5%
E_k	$61,6 \pm 2,7$	$725,6 \pm 31,0$	4,3 %	$403,7 \pm 5,2$	$616,6 \pm 33,4$	5,4%
Anodická předpříprava v $0,5 \text{ mol.l}^{-1}$ kyselině sírové +2,4V, 5 minut						
míchání	$531 \pm 0,0$	$4172 \pm 88,12$	2,1 %	$522,9 \pm 7,6$	$133,0 \pm 52,4$	4,6%

3.3.1.3. Vliv koncentrace boru

Vliv koncentrace boru v BDD filmu na elektrochemickou redukci 5-nitrochinolinu byl studován porovnáním naměřených DP a DC voltametrických křivek různě dopovanými diamantovými elektrodami. Měření bylo provedeno s elektrodami s poměrem boru a uhlíku při depozici 500ppm, 1000ppm, 2000ppm, 4000ppm a 8000 ppm v prostředí 0,1 mol.l⁻¹ octanového pufru s optimálním pH 5,0. Před měřením byla u každého BDD filmu provedena anodická předpříprava 5 minut při vloženém potenciálu +2,4V v 0,5 mol.l⁻¹ kyselině sírové. Mezi scany byla použita aktivace elektrodového povrchu pomocí 20ti sekundového míchání roztoku. DC a DP voltamogramy jsou vyobrazeny na obr. 21, v tab. 9 jsou uvedeny výšky píků I_p redukce nitroskupiny a jejich potenciály E_p . Z těchto záznamů DC a DP voltametrie (obr. 21) je vidět, že elektrody s menším obsahem boru v diamantovém filmu (500 ppm a 1000 ppm) vykazují menší citlivost k redukci nitroskupiny. Elektrody s kovovým charakterem vodivosti (2000 ppm – 8000 ppm) vykazují lepší elektrodovou odezvu při redukci 5-nitrochinolinu. Pro tyto elektrody s kovovým charakterem vodivosti jsou výšky píků srovnatelné. V porovnání s prací, kde byl sledován vliv koncentrace boru na stanovení 2-aminobifenyly není při stanovení 5-nitrochinolinu zřejmý sestupný trend směrodatné odchylky ani vzestupný trend výšek píků s koncentrací boru v elektrodě²⁴. Vliv koncentrace boru v BDD filmu na signál 5-nitrochinolinu je srovnatelný s vlivem koncentrace boru v BDD filmu na signál benzofenonu-3, kdy byla lepší elektrodová odezva u filmů s kovovým charakterem vodivosti⁶⁴.

Tab. 9: Výšky píku I_p a jejich potenciály E_p vyhodnocené z DC a DP voltamogramů 5-nitrochinolinu ($c = 1.10^{-4}$ mol.l⁻¹) v 0,1 mol.l⁻¹ octanovém pufru měřené BDD filmy s obsahem boru v rozsahu 500 – 8000 ppm.

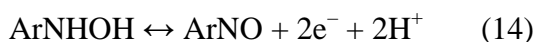
Poměr B/C (ppm)	DPV			DCV		
	E_p (mV)	I_p (nA)	RSD z I_p $n = 15$	E_p (mV)	I_p (nA)	RSD z I_p $n = 15$
500	- 561	- 579 ± 15	2,7 %	- 797	- 2502 ± 84	3,4 %
1000	- 498	- 255 ± 13	5,2%	- 536	- 691 ± 53	7,2%
2000	- 388	- 2065 ± 38	1,8%	- 443	- 3616 ± 57	1,6%
4000	- 522	- 1132 ± 51	4,5%	- 531	- 4154 ± 57	1,4 %
8000	- 442	- 1589 ± 18	1,2 %	- 519	- 3581 ± 83	2,3%



Obr. 21: (A) DC a (B) DP voltamogramy 5-nitrochinolinu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v prostředí $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ octanového pufru o pH 5,0, měřeno BDD elektrodami s různým obsahem boru: (a) 500 ppm, (b) 1000 ppm, (c) 2000 ppm, (d) 4000 ppm, (e) 8000 ppm.

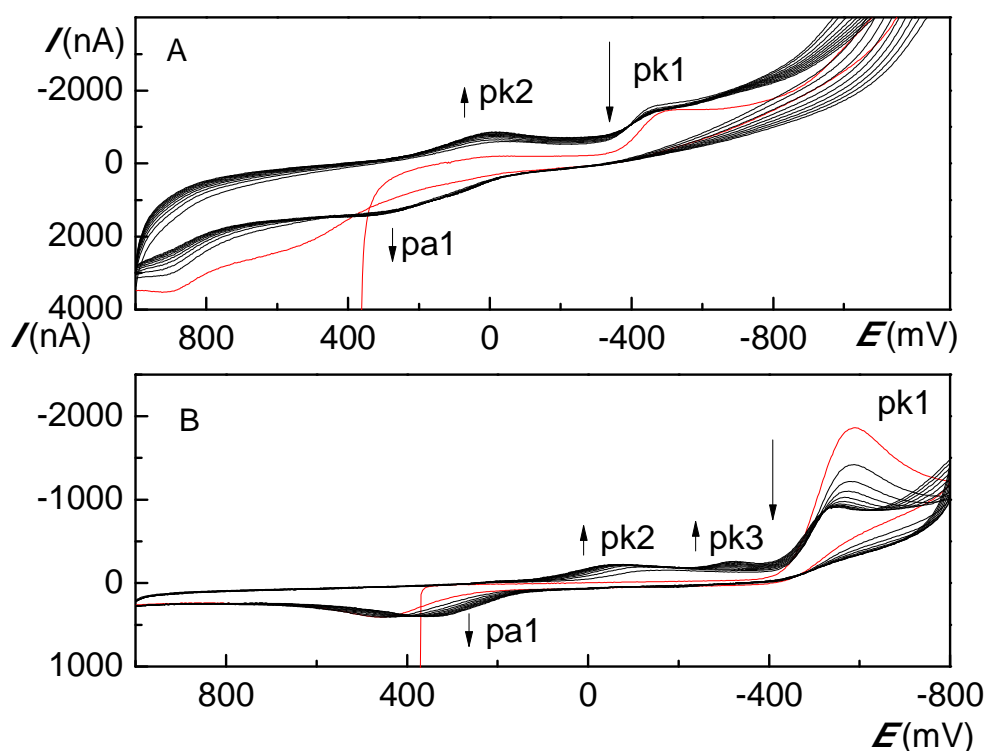
3.3.2. Cyklická voltametrie 5-nitrochinolinu

Pro ověření mechanismu redukce 5-nitrochinolinu byly změřeny cyklické voltamogramy s různě nastaveným rozsahem pracovních potenciálů. Na obr. 22 jsou znázorněny voltamogramy od $+1,0 \text{ V}$ do $-1,3 \text{ V}$ (A) a od $+1,0 \text{ V}$ do $-0,8 \text{ V}$ (B), tj. těsně za hlavní pík nitroskupiny. V prvním cyklu dochází pouze k redukci nitroskupiny na hydroxylamin (pk1), na obrázku zvýrazněn červeně. Hydroxylamin se ve zpětném anodickém scanu následně oxiduje na NO (pa1), který při druhém katodickém scanu zpětně podléhá redukci na hydroxylamin (pk2) (děj popsáný rovnicí 14). Tato redukce probíhá v pozitivnějších potenciálech než hlavní redukce nitroskupiny^{43,42}.

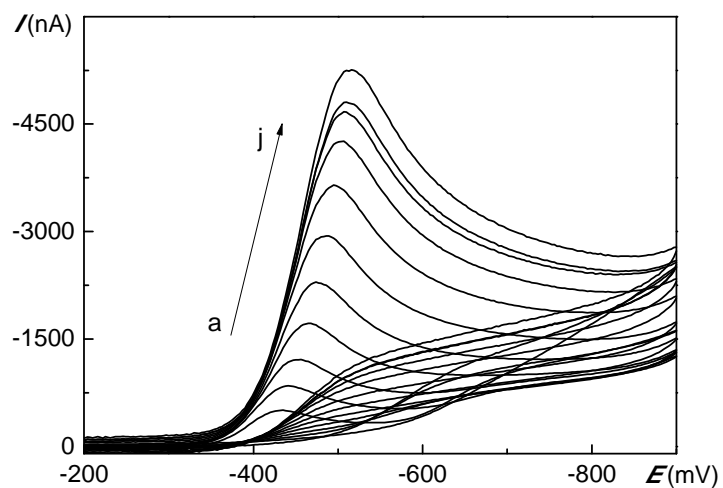


Ze záznamu je dále vidět, že při kratším scanu do $-0,8 \text{ V}$ (obr. 22 B) se před hlavním redukčním píkem nitroskupiny (pk1) vytváří katodický pík (pk3), jehož původ je nejasný. Tento pík nevzniká, je-li potenciálové okno prodlouženo do $-1,3 \text{ V}$ (obr. 22 A), tj. do oblasti úniku základního elektrolytu. S rostoucím počtem scanů se snižuje velikost píku redukce nitro skupiny (pk1), zatímco velikost píků meziproduktů (pk2), (pk3) a (pa1) se zvyšuje.

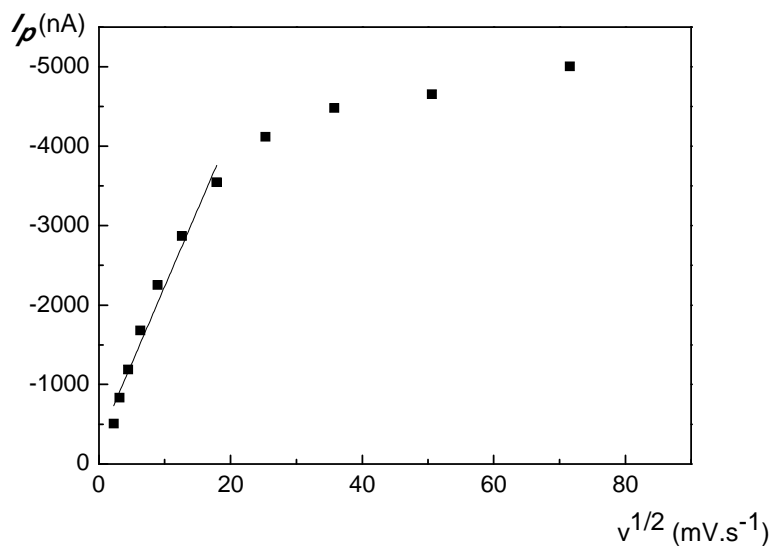
Na obrázku 23 jsou uvedeny záznamy z cyklické voltametrie roztoku 5-nitrochinolinu, které byly pořízeny z měření za optimálních podmínek s různou rychlostí polarizace BDD elektrody v rozmezí od 5 mV.s^{-1} do 5120 mV.s^{-1} . Z lineární svislosti výšky píku I_p na odmocnině rychlosti polarizace $v^{1/2}$ na obr. 24 plyne, že do rychlosti polarizace 400 mV.s^{-1} je elektrodový děj řízen difúzí. Tuto lineární závislost popisuje rovnice $I_p \text{ (nA)} = -193,2 v^{1/2} - 300,9$ ($R = 0,987$) Ve stejném rozsahu rychlostí lze popsat posun potenciálu píku s logaritmem rychlosti polarizace $\log v$ v rovnici $E_p \text{ (mV)} = -35,6 \log v - 406,5$ ($R = 0,999$) Při vyšších rychlostech není závislost výšky píku na rychlosti scanu dále lineární a děj není řízen difúzí elektroaktivní látky k elektrodě.



Obr. 22: Cyklické voltamogramy 5-nitrochinolinu o koncentraci $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ v prostředí $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ octanového pufru o pH 5,0 s různým rozsahem pracovního okna: +1,0 V až -1,3 V (A) +1,0 V až -0,8 V (B). Měřeno od potenciálu +400 mV do záporných potenciálů s rychlostí polarizace 100 mV.s^{-1} .



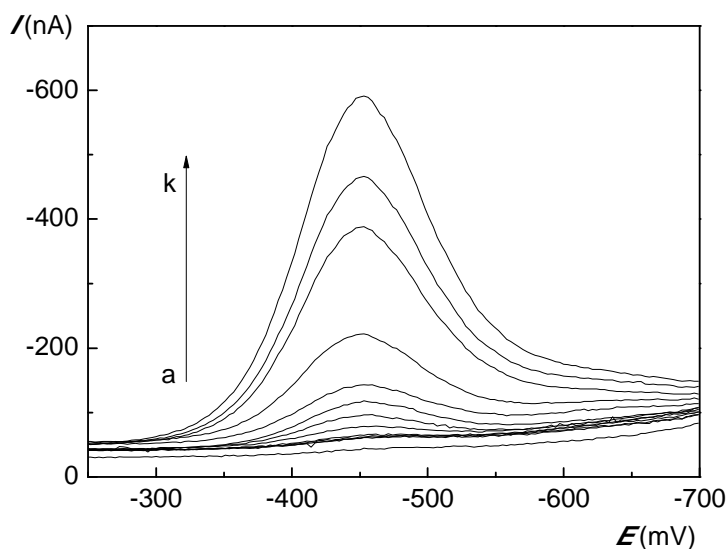
Obr. 23: Cyklické voltamogramy 5-nitrochinolinu ($c = 1.10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) registrované s různou rychlostí polarizace (mV.s^{-1}): 5 (a), 10 (b), 20 (c), 40 (d), 80 (e), 160 (f), 320 (g), 640 (h), 1280 (ch), 2560 (i), 5120 (j) v prostředí $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ octanového pufru o pH 5,0. Vyobrazeny první cykly.



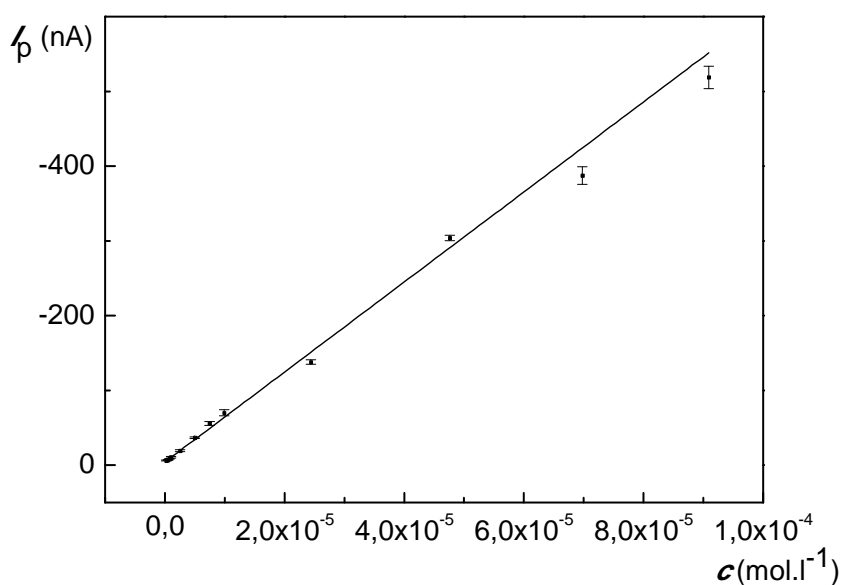
Obr 24: Závislost výšek píku I_p 5-nitrochinolinu ($1.10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v prostředí $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ octanového pufru na odmocnině rychlosti polarizace $\nu^{1/2}$ BDD elektrody (B/C 4000 ppm).

3.3.3. Kalibrační závislost 5-nitrochinolinu

S optimalizovanými podmínkami byla změřena kalibrační závislost 5-nitrochinolinu v rozsahu koncentrací $2,5 \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$ až $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ pro oba typy předpřípravy BDD elektrody s mechanickou aktivací elektrody mezi scany. V tab. 10 jsou shrnuty meze detekce, meze stanovitelnosti a parametry kalibrační závislosti pro DP a DC voltametrii a na obr. 25 je ukázka naměřených DP voltamogramů 5-nitrochinolinu pro anodickou předpřípravu odpovídající kalibrační závislost je na obr. 26. Porovnáním hodnot uvedených v tab. 10 je vidět, že anodická předpříprava je vhodnějším postupem pro stanovení 5-nitrochinolinu než předpříprava katodická, u které navíc docházelo k posunu potenciálu píku ke kladnějším hodnotám potenciálů. Meze stanovitelnosti a detekce jsou pro stanovení 5-nitrochinolinu s anodickou předpřípravou diamantového povrchu v koncentračním řádu $10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$ pro DP voltametrii a $10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$ pro DC voltametrii, která je z obou metod citlivější. Pro katodickou předpřípravu jsou meze detekce v koncentračním řádu $10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$ pro DP voltametrii a $10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$ pro DC voltametrii, meze stanovitelnosti jsou pro DP voltametrii $10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$ a pro DC voltametrii $10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$. Lepší detekční meze pro anodickou předpřípravu jsou dány vyšší citlivostí (tj. směrnici) kalibrační závislosti a nižší hodnotou RSD pro nejnižší vyhodnotitelnou koncentraci, která byla použita k výpočtu LOD a LOQ. Elektrochemická redukce 5-nitrochinolinu na amalgámových a rtuťových elektrodách vykazuje o řád nižší mez detekce^{40,46}.



Obr. 25: Diferenční pulzní voltamogramy 5-nitrochinolinu o koncentraci (mol.l^{-1}): $2,5 \cdot 10^{-7}$ (a), $5 \cdot 10^{-7}$ (b), $7,5 \cdot 10^{-7}$ (c), $1 \cdot 10^{-6}$ (d), $2,5 \cdot 10^{-6}$ (e), $5 \cdot 10^{-6}$ (f), $7,5 \cdot 10^{-6}$ (g), $1 \cdot 10^{-5}$ (h), $2,5 \cdot 10^{-5}$ (ch), $5 \cdot 10^{-5}$ (i), $7,5 \cdot 10^{-5}$ (j) $1 \cdot 10^{-4}$ (k) v prostředí $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ octanového pufru o pH 5,0 s anodickou předpřípravou BDD elektrody. Graf zobrazuje páté scany měření kalibrační závislosti.



Obr. 26: Kalibrační závislost 5-nitrochinolinu v prostředí $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ octanového pufru o pH 5,0 s anodickou předpřípravou BDD elektrody. Chybové úsečky znázorňují směrodatné odchylky z 10ti následných měření.

Tab. 10: Parametry kalibračních závislostí a meze detekce a stanovitelnosti 5-nitrochinolinu pro anodickou a katodickou předpřípravu elektrodového povrchu.

Předpříprava elektrody	LDR ($\mu\text{mol.l}^{-1}$)	R	Směrnice ($\text{nA.l.}\mu\text{mol}^{-1}$)	Úsek (nA)	RSD ^a	LOQ ($\mu\text{mol.l}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{mol.l}^{-1}$)
DPV							
Anodická	0,5 – 100	0,988	$-6,02 \pm 0,06$	$-4,11 \pm 0,21$	6,5 %	0,66	0,20
Katodická	0,5 – 75	0,996	$-4,59 \pm 0,05$	$-10,44 \pm 0,66$	12%	1,68	0,50
DCV							
Anodická	10 – 100	0,997	$-9,73 \pm 0,12$	$24,06 \pm 6,38$	10 %	8,9	2,7
Katodická	7,5 – 75	0,998	$-7,61 \pm 0,14$	$-31,05 \pm 1,07$	13 %	15,7	4,7

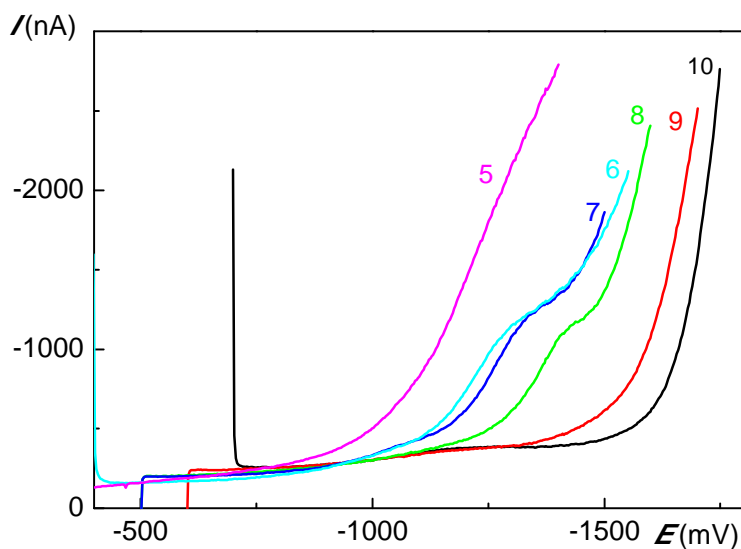
^a relativní směrodatná odchylka pro I_p nejnižší koncentrace LDR (z 10ti měření)

3.4. Elektrochemická redukce azidothymidinu (AZT) na BDD elektrodě

Stanovení AZT elektrochemickou redukcí pomocí BDD elektrody s poměrem boru a uhlíku v plynné směsi při depozici 4000 ppm bylo vyzkoušeno v prostředí Brittonova – Robinsonova pufru o různém pH s anodicky předpřípravenou BDD elektrodou.

Vliv pH prostředí pro stanovení azidothymidinu bylo sledováno v rozsahu pH 5,0 – 10,0 Brittonova – Robinsonova pufru. Byla vybrána tato pH kvůli delšímu potenciálovému oknu, než u pH kyselých a znalosti voltametrického chování AZT na amalgámových elektrodách, kdy při vyšších či nižších hodnotách pH jsou voltametrické píky AZT špatně vyhodnotitelné či nejsou přítomny⁶. Z diferenčních pulzních voltamogramů uvedených na obr. 27 je vidět posun konce redukční strany potenciálového okna s nárůstem pH měřeného roztoku, což umožňuje redukcí hůře redukovatelných látek. Na elektrodách na bázi rtuti probíhá redukce zidovudinu v zásaditém prostředí pH 9,3 při relativně záporných potenciálech -1043 mV pro HMDE, -1050 mV pro m-AgSAE a -1060 mV pro p-AgSAE⁶. Na BDD elektrodě je redukce AZT viditelná na obrázku 27 od pH 6,0 do pH 8,0 při potenciálech

–1295 mV (pH6), –1362 mV (pH7) a –1448 mV (pH8), tj. zápornějších než na výše jmenovaných elektrodách. Velikost voltametrických odezev napovídá, že borem dopovaná diamantová elektroda není k redukci azidothymidu tak citlivá jako elektrody rtuťové a amalgámové jak je zřejmé z dostupné literatury⁶, kde jsou meze detekce redukce v koncentračních řádech $10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$ až $10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$. Proto nebyly možnosti stanovení azidothymidinu na BDD elektrodě dále testovány.



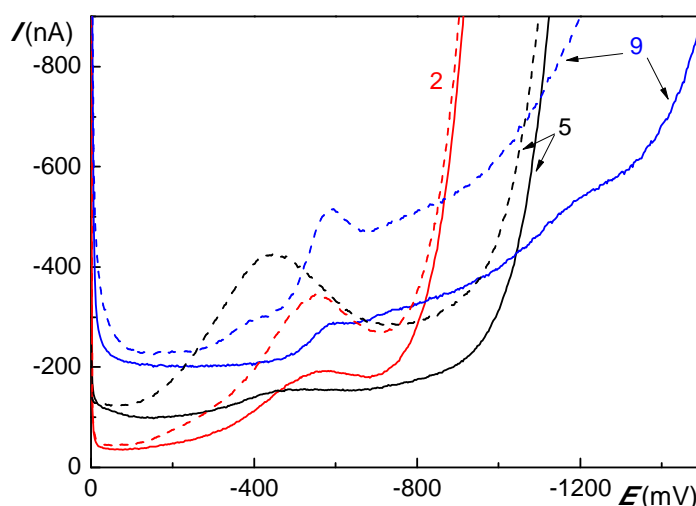
Obr. 27: Diferenční pulzní voltamogramy azidothymidinu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v prostředí Brittonova-Robinsonova pufru o pH 5,0, pH 6,0, pH 7,0, pH 8,0, pH 9,0, pH 10,0. Číslo u voltamogramu odpovídá pH pufru.

3.5. Elektrochemická redukce vanilinu

Elektrochemická redukce vanilinu byla sledována na BDD elektrodě s poměrem boru a uhlíku 4000 ppm v prostředí Brittonova – Robinsonova pufru o různých pH. Stejně jako v případě azidothymidinu byl předpoklad redukce spíše v zásaditých prostředích.

Zároveň byl sledován vliv přítomnosti kyslíku na redukci vanilinu. Vybrané DP voltamogramy vanilinu v BR pufru o různém pH jsou uvedeny na obr. 28 v přítomnosti a nepřítomnosti kyslíku. Porovnáním těchto voltamogramů je zřejmé, že ani v zásaditých prostředích není viditelný signál vanilinu, případné píky vždy

potenciálem odpovídají reziduím kyslíku v roztoku. BDD elektroda tedy není vhodná k jeho elektrochemické redukci ve vodných prostředích. Vanilin však byl stanovován na BDD elektrodě elektrochemickou oxidací pomocí adsorpční rozpouštěcí voltametrie, kdy bylo dosaženo meze detekce $1,6 \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$ a metoda byla využita ke stanovení vanilinu v pudinkovém prášku⁵⁹.



Obr. 28: Diferenční pulzní voltamogramy vanilinu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v prostředí Brittonova- Robinsonova pufru o pH 2,0, 5,0, 9,0, v přítomnosti kyslíku (čerchovaná čára) a s odstraněným kyslíkem (plná čára) z roztoku. Označení voltamogramů odpovídá pH prostředí.

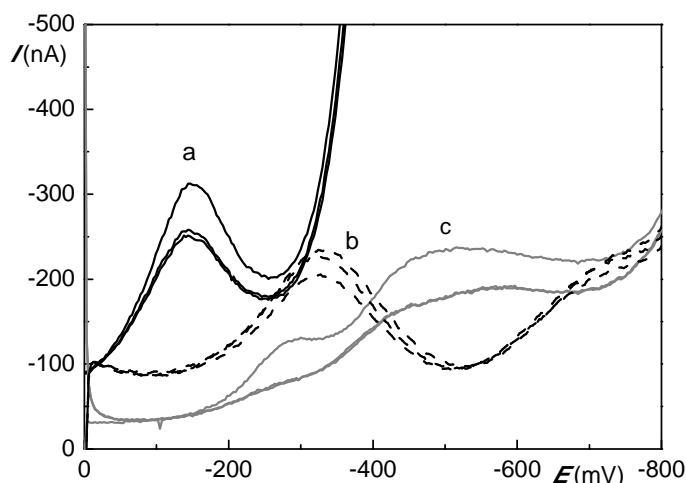
3.6. Elektrochemické stanovení potravinářských azobarviv

Pro stanovení potravinářských azobarviv na borem dopované diamantové elektrodě pomocí elektrochemické redukce byli vybráni dva zástupci – tartrazin (E102) a allurová červeň (E129). Nejprve byla provedena optimalizace podmínek elektrochemické redukce obou barviv samotných a ve směsi. Se zvolenými optimálními podmínkami byla změřena kalibrační závislost pro obě barviva. Dále bylo provedeno stanovení obou barviv v reálném vzorku limonády Mountain Dew – Code red. Na obale limonády není deklarováno množství barviv v nápoji.

3.6.1. Optimalizace podmínek pro voltametrické stanovení tartrazinu a allurové červeně

3.6.1.1. Vliv předpřípravy borem dopované diamantové elektrody

Vliv předpřípravy diamantové elektrody byl sledován v prostředí BR pufru o pH 2,0, které bylo použito i v jiné studii redukce tartrazinu na BDD elektrodě³¹. Z obr. 29 je vidět, že typ předpřípravy elektrody má významný vliv na velikost proudové odezvy tartrazinu. Byly použity tyto typy předpřípravy povrchu diamantové elektrody – katodická předpříprava s vloženým potenciálem $-2,7$ V po dobu 10 minut, anodická předpříprava s vloženým potenciálem $+2,4$ V po dobu 5ti minut a předpříprava s vloženým proudem $-1,32 \text{ A.cm}^{-2}$ po dobu 10 minut, vše v $0,5 \text{ mol.l}^{-1}$ kyselině sírové. Jak je vidět z voltamogramů na obrázku 29 i z obrázku následujícího, je zřejmé, že při anodické předpřípravě byla proudová odezva nižší a pík tartrazinu byl hůře vyhodnotitelný. Předpříprava s vloženým proudem $-1,32 \text{ A.cm}^{-2}$ po dobu 10ti minut vykazuje horší opakovatelnost měření a píky při měření směsi barviv nejsou zcela odlišeny. Z obrázku 29 je také zřejmý posun potenciálu píku a výrazně kratší potenciálové okno pro tento typ předpřípravy. Optimální předpřípravou borem dopované diamantové elektrody byla proto vybrána katodická předpříprava s vkládaným záporným potenciálem $-2,7$ V po dobu deseti minut.

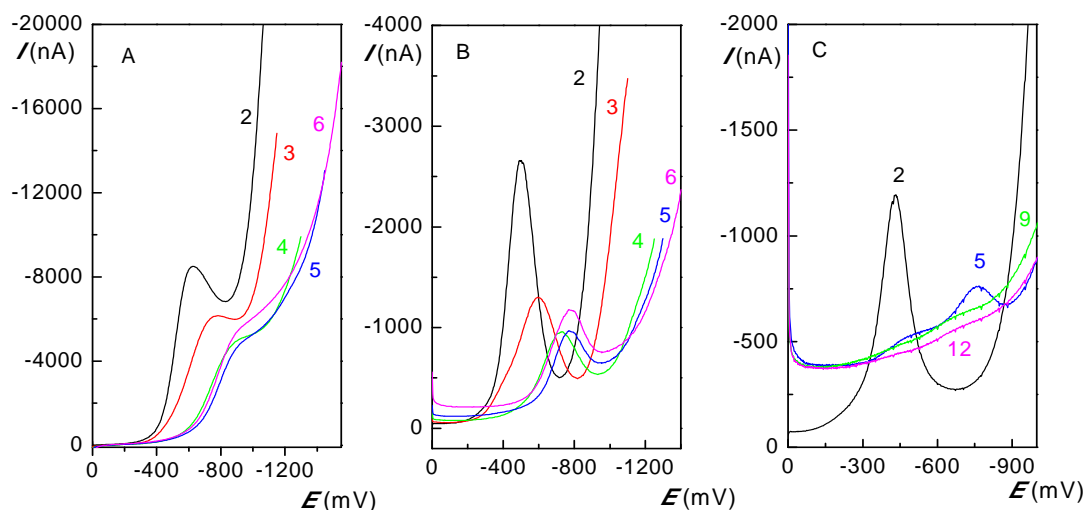


Obr. 29: Diferenční pulzní voltamogramy tartrazinu ($c = 1.10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0 s různými způsoby předpřípravy: (a) vložným proud $-1,32 \text{ A.cm}^{-2}$ po dobu 10 minut v $0,5 \text{ mol.l}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ (b) anodická předpříprava 5 minut v $0,5 \text{ mol.l}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ s vloženým potenciálem $+2,4 \text{ V}$ (c) a katodická předpříprava 10 minut v $0,5 \text{ mol.l}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ s vloženým potenciálem $-2,7 \text{ V}$. Zobrazeny vždy tři následné scany.

3.6.1.2. Vliv pH prostředí na elektrochemickou redukci azobarviv

Pro studium vlivu pH prostředí na redukci vybraných azobarviv byl vybrán tartrazin v prostředí Brittonova – Robinsonova pufru o různých pH. Na obr. 30 (A+B) jsou vyobrazeny záznamy z DC a DP voltametrie změřené v BR pufru o různém pH, a to 2,0 až 6,0, a dále 9,0 a 12,0 s katodickou předpřípravou elektrody. Je zřejmé, že s rostoucím pH dochází k posunu píku k zápornějším hodnotám potenciálu. Je pravděpodobné, že redukce azoskupiny probíhá podle rovnice 10 a 11 v úvodní kapitole 1.3.3. V kyselých pH jsou oba kroky redukce spojeny díky snadnější protonizaci dvojné vazby. Rozdělení redukce na dva kroky v zásaditých pH není na voltamogramech změřených s BDD elektrodou viditelné. Redukční pík tartrazinu má v kyslejších pH větší výšku jak u DP, tak u DC voltamogramů; v prostředí o pH 9,0 a 12,0 nebyl signál tartrazinu zaznamenán. Pro srovnání jsou na obr. 30 C uvedeny DP voltamogramy s anodickou předpřípravou BDD elektrody. Je z nich vidět, že i při tomto způsobu je elektrodová odezva redukce azo skupiny tartrazinu vyšší v kyselých pH prostředí, nicméně výška píku je podstatně nižší než při použití katodické předpřípravy.

Podobné výsledky jsou uváděny i pro další potravinářská azobarviva (brilantní modř a žlutý „sunsetyellow (SY)“) ³¹. Zdá se tedy, že katodická předpříprava BDD elektrody a kyselé prostředí je důležitým předpokladem pro úspěšnou elektrochemickou redukci azo-skupiny na BDD elektrodách. Další experimenty byly provedeny v BR pufru pH 2,0 nebo v prostředí 0.1 mol.l⁻¹ kyseliny sírové dle studie ³¹.



Obr. 30: (A) DC a (B, C)DP voltamogramy tartrazinu o koncentraci $5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ v prostředí BR pufru o různých pH: 2,0, 3,0, 4,0, 5,0, 6,0, 9,0 a 12,0. Měřeno s (A, B) katodickou předpřípravou elektrody a s (C) anodickou předpřípravou elektrody. Číslo u voltamogramů odpovídá pH prostředí.

3.6.1.3. Vliv aktivace borem dopované diamantové elektrody mezi scany

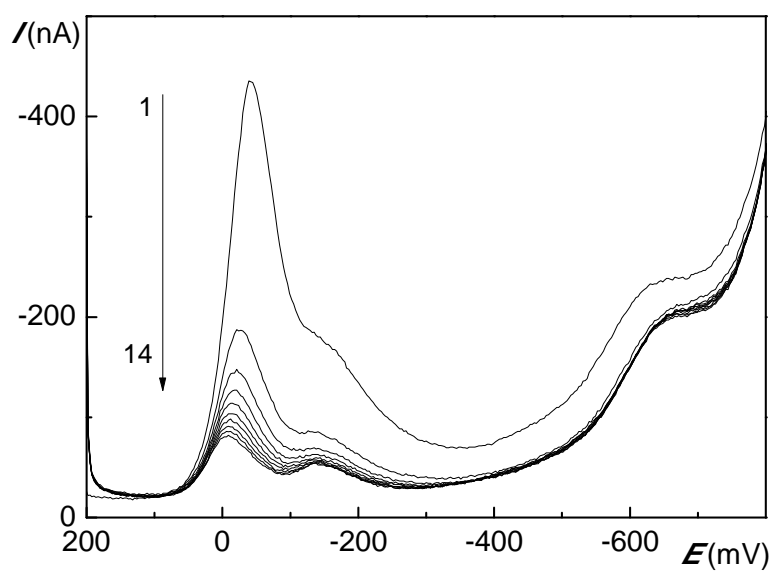
Vliv aktivace borem dopované diamantové elektrody byl studován, protože při měření dochází k pasivaci elektrodového povrchu, jak je vidět na příkladu redukce allurové červeně na obr. 31. V průběhu 14ti následných DP scanů bez aktivace mezi scany došlo k poklesu výšky píku o 82 % a k posunu potenciálu píku o 34 mV blíže k nule. Na dalších obrázcích (obr. 32 a obr. 33) jsou uvedeny DP voltamogramy obou azobarviv pořízené s různou mechanickou či elektrochemickou aktivací elektrodového povrchu mezi scany: míchání roztoku mezi scany nebo míchání roztoku s katodickou aktivací při vloženém potenciálu -2,7V či anodickou aktivací při vloženém potenciálu +2,4 V. Na obr. 34 jsou zobrazeny DP voltamogramy ekvimolární směsi barviv s katodickou aktivací elektrody a s mechanickou aktivací elektrody mezi scany.

Pro DP voltamogramy tartrazinu (obr. 32) s anodickou aktivací je zřejmá nižší elektrodová odezva než při aktivaci katodické. S delší dobou aktivace elektrodového povrchu se snižuje opakovatelnost měření, jak plyne ze zvyšujících se hodnot RSD výšky píku pro redukci tartrazinu i allurové červeně uvedených v tab. 11 a tab. 12. Při porovnání obou typů aktivace elektrodového povrchu pro DP voltametrii allurové červeně (obr. 33) je vidět, že při anodické aktivaci dochází oproti katodické aktivaci k rozšíření voltametrického píku zřejmě v důsledku pomalejšího přenosu elektronů na oxidovaném povrchu elektrody. Navíc s delší dobou anodické aktivace elektrodového povrchu se snižovala v průběhu měření výška redukčního píku.

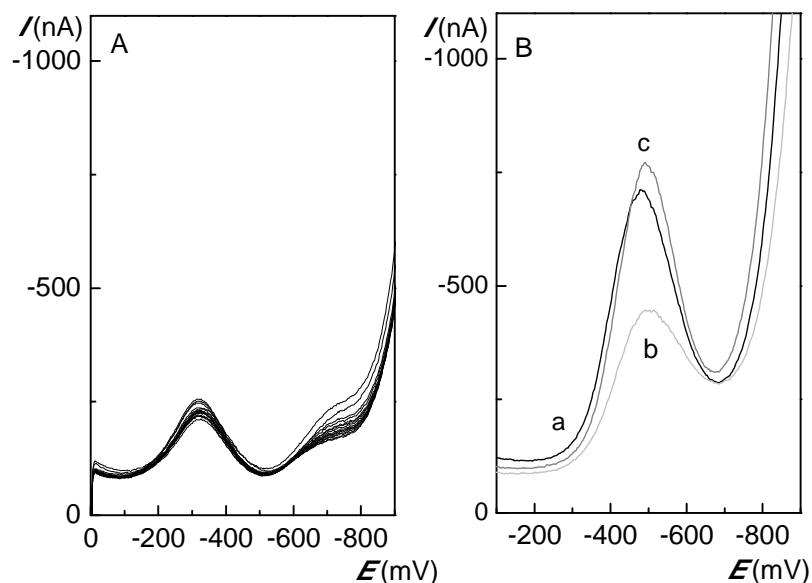
Pokud nebyl aplikován žádný aktivační potenciál a mezi jednotlivými scany byl BDD povrch aktivován mechanicky mícháním, jsou redukční píky tartrazinu nejvyšší s přijatelnou RSD výšky píku do 10% (viz tab. 11). Tato metoda však nebyla vhodná pro redukci allurové červeně, kdy docházelo k postupnému poklesu výšky píků a jejich deformaci.

DP voltamogramy na obr. 34 byly pořízené při měření ekvimolárních směsí potravinářských barviv s katodickou aktivací diamantového povrchu mezi scany a s aktivací bez vloženého potenciálu pouhým mícháním. Tyto záznamy potvrzují správné zvolení typu aktivace. Při měření jen s mechanickou aktivací elektrodového povrchu nejsou píky separovány a redukční píky azobarviv tak nejsou dobře vyhodnotitelné.

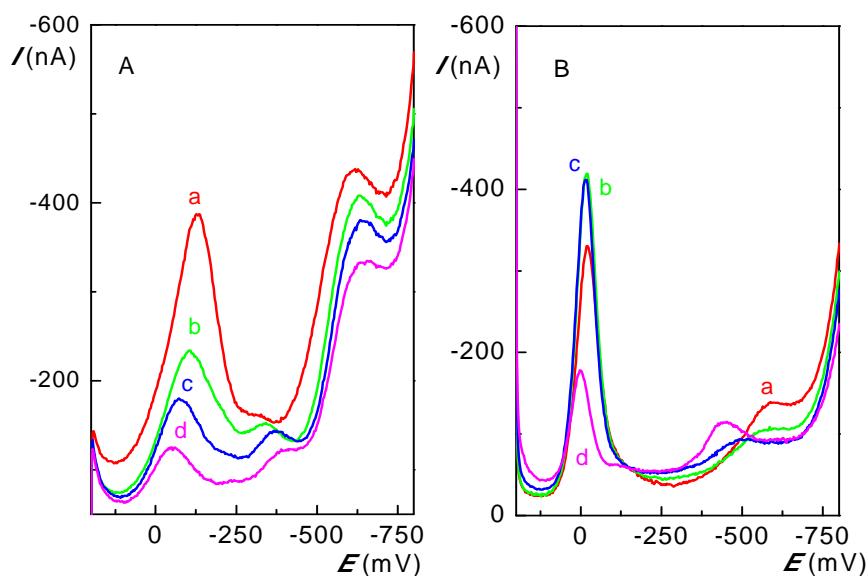
Z porovnání všech záznamů vyplývá, že nejlepší aktivací je katodická aktivace s vloženým záporným potenciálem $-2,7\text{ V}$ po dobu dvaceti sekund.



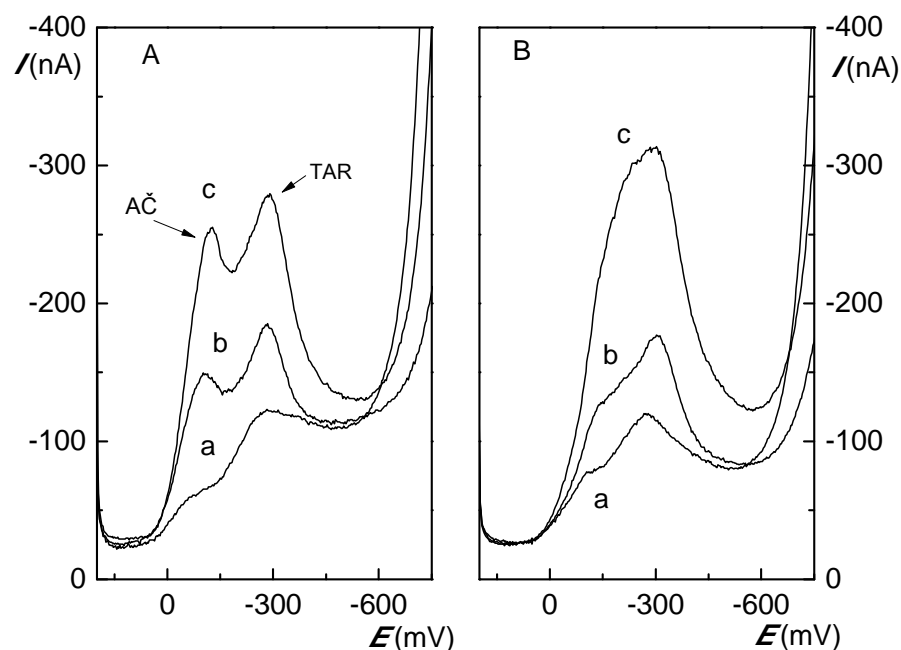
Obr. 31: Diferenční pulzní voltamogramy allurové červeně o koncentraci $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ v prostředí $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ kyseliny sírové bez aktivace mezi scany.



Obr. 32: Diferenční pulzní voltamogramy tartrazinu o koncentraci $5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ v prostředí BR pufru o pH 2,0 s různými druhy aktivace povrchu elektrody: (A) anodická aktivace 20 s při vloženém potenciálu +2,4 V (17 následných scanů), (B) katodická aktivace při vloženém potenciálu -2,7 V po dobu 30 (a), 20 (b) a 10 (c) sekund.



Obr. 33: Diferenční pulzní voltamogramy allurové červeně ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v prostředí $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ kyseliny sírové s různými druhy aktivace mezi scany: (A) míchání roztoku s vloženým potenciálem +2,4 V, (B) míchání roztoku s vloženým potenciálem -2,7 V po dobu 10 (a), 20 (b), 30 (c), 60 (d) sekund.



Obr. 34: Diferenční pulzní voltamogramy ekvimolárních směsí potravinářských barviv tartrazinu (TAR) a allurové červeně (AČ) v prostředí $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ kyseliny sírové o koncentraci (mol.l^{-1}): $1 \cdot 10^{-5}$ (a), $5 \cdot 10^{-5}$ (b) a $1 \cdot 10^{-4}$ (c) s různou aktivací elektrodového povrchu mezi scany: (A) 20s míchání s vloženým potenciálem $-2,7 \text{ V}$ a (B) 20s míchání roztoku bez vloženého potenciálu.

Tab. 11: Hodnoty výšek píků I_p redukce tartrazinu ($c = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) a relativní směrodatné odchylky z deseti scanů pro různé druhy aktivace elektrody mezi scany.

aktivace	míchání bez potenciálu		katodická $-2,7 \text{ V}$		anodická $+2,4 \text{ V}$	
čas (s)	I_p (nA)	RSD	I_p (nA)	RSD	I_p (nA)	RSD
30	-	-	$-450,6 \pm 67,6$	14,9 %	-	-
20	$-561,5 \pm 54,6$	9,7 %	$-323,5 \pm 30,4$	9,4 %	$-134,4 \pm 10,3$	7,6 %
10	$-463,9 \pm 30,0$	6,5 %	$-540,5 \pm 26,4$	4,9 %	-	-

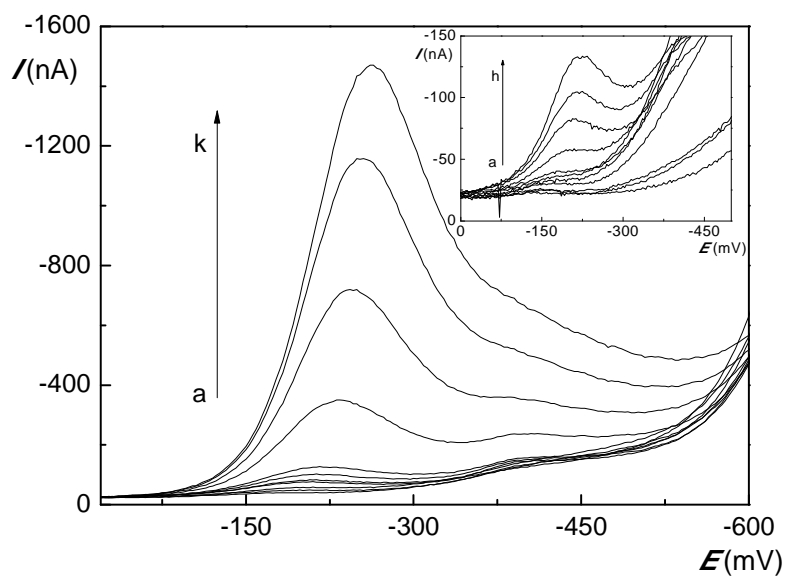
Tab. 12: Hodnoty výšek píků I_p redukce allurové červeně ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) a relativní směrodatné odchylky z deseti scanů pro různé druhy aktivace elektrody mezi scany.

aktivace	katodická -2,7 V		anodická +2,4 V	
čas (s)	I_p (nA)	RSD	I_p (nA)	RSD
30	- 336,3±47,9	14,2 %	-	-
20	- 344,6±30,5	8,8 %	- 123,3±21,9	17,8%
10	- 220,2±58,4	26,5 %	- 225±28,8	12,8%

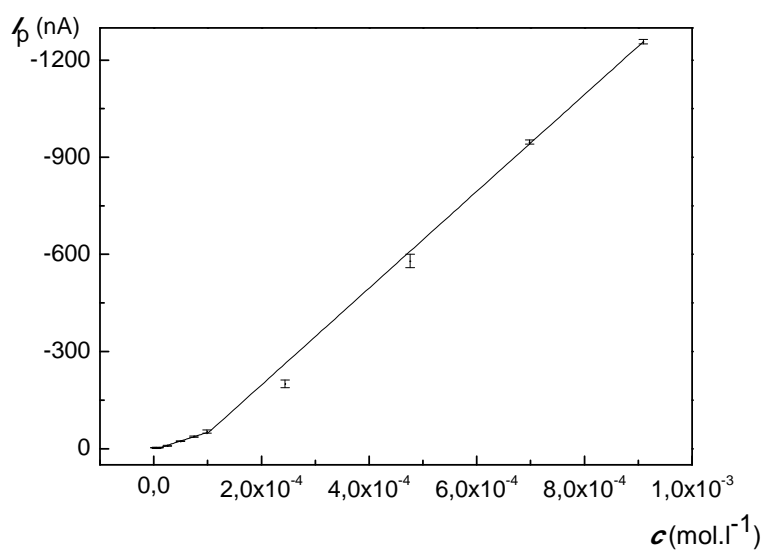
3.6.1.4. Kalibrační závislost potravinářských azobarviv

Kalibrační závislosti potravinářských barviv byly změřeny při optimálních podmínkách, tj. s katodickou předpřípravou BDD elektrody a 20ti sekundovou katodickou aktivací s vloženým potenciálem -2,7 V a mícháním v prostředí $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ kyseliny sírové mezi scany. Na obr. 35 a 36 jsou DP voltamogramy tartrazinu a příslušné závislosti výšky píků na koncentraci tartrazinu. Obr. 37 a 38 ukazuje totéž pro allurovou červeně. Potenciál píku E_p se s rostoucí koncentrací c u obou analytů posouvá k zápornějším potenciálům (viz obr. 39), přičemž směrnice posunu E_p vs. $\log c$ je -47,2 mV pro tartrazin a -39,8 mV pro allurovou červeně. Parametry kalibračních závislostí a meze detekce a stanovitelnosti pro obě studovaná barviva jsou uvedeny v Tab. 13. Z výsledků měření je zřejmé, že kalibrační závislost není lineární v celém měřeném rozsahu koncentrací $2,5 \cdot 10^{-6}$ až $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$ pro tartrazin a $5 \cdot 10^{-7}$ až $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ pro allurovou červeně, ale pro obě barviva má dva lineární úseky. Porovnáním mezí detekce pro tartrazin a allurovou červeně je zřejmé, že nižší v koncentračním řádu 10^{-7} byl dosažen pro allurovou červeně, což je v souladu s vyšší citlivostí BDD elektrody k tomuto analytu při nízkých koncentracích (viz směrnice kalibrační závislosti v tab. 13). Ve studii, kde byl stanovován tartrazin na BDD elektrodě s katodickou předpřípravou bylo dosaženo DPV o 2 řády menšího limitu detekce (viz tabulka 4, v úvodu práce)³¹. Allurová červeně stanovovaná pomocí DP polarografie v prostředí fosfátového pufru pH 9,1, $0,1 \text{ mol.l}^{-1} \text{ KCl}$ a $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ cetrát sodný vykazovala o půl řádu nižší limit detekce než limit detekce v této práci⁷ (viz tabulka 5 v úvodu práce). V porovnání s detekcí obou vybraných barviv pomocí ESI/MS/MS jsou meze detekce z DP voltametrie s BDD elektrodou přibližně o řád vyšší než meze detekce barviv

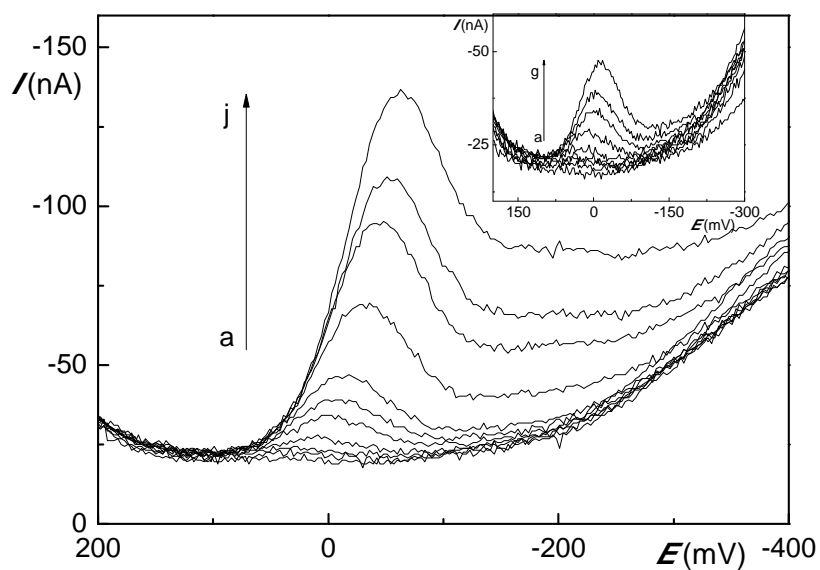
tandemovou hmotnostní spektrometrií, kdy bylo dosaženo mezí detekce pro allurovou červeň $1 \cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$ a pro tartrazin $9,4 \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$ (cit. ⁶⁷). Na rtuťové kapající elektrodě (DME, pH 9,2) pomocí DPP bylo dosaženo mezí detekce a stanovitelnosti ve stejném koncentračním řádu jako při detekci tandemovou hmotnostní spektrometrií⁸. Ve srovnání s hodnotami získanými z citované práce jsou meze detekce a stanovitelnosti pro tartrazin a allurovou červeň získané z měření na DME o řád nižší než hodnoty z měření na BDD s poměrem boru a uhlíku 4000 ppm. Nutno poznamenat, že takto nízké meze detekce, jako v citovaných studiích^{7,8} pro stanovení organických látek na kapající rtuťové elektrodě nejsou obvyklé.



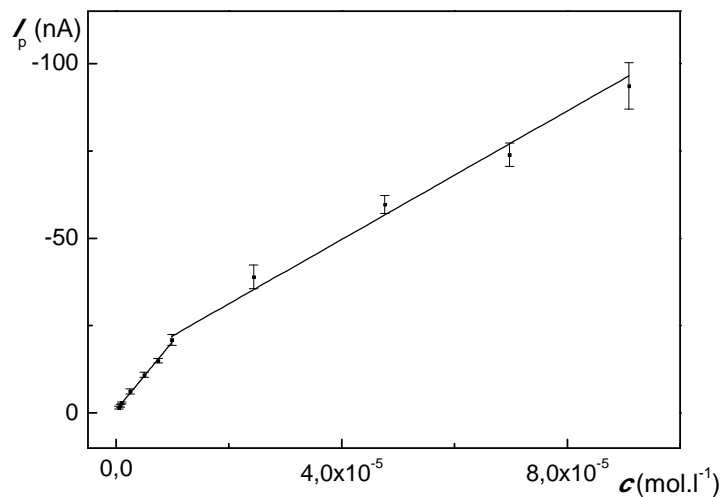
Obr. 35: Diferenční pulzní voltamogramy tartrazinu v prostředí $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ kyseliny sírové. Koncentrace tartrazinu (mol.l^{-1}): $2,5 \cdot 10^{-6}$ (a), $5 \cdot 10^{-6}$ (b), $7,5 \cdot 10^{-6}$ (c), $1 \cdot 10^{-5}$ (d), $2,5 \cdot 10^{-5}$ (e), $5 \cdot 10^{-5}$ (f), $7,5 \cdot 10^{-5}$ (g), $1 \cdot 10^{-4}$ (h), $2,5 \cdot 10^{-4}$ (ch), $5 \cdot 10^{-4}$ (i), $7,5 \cdot 10^{-4}$ (j), $1 \cdot 10^{-3}$ (k). Vložený graf zobrazuje voltamogramy pro nižší koncentrace (a) – (h).



Obr. 36: Kalibrační závislost tartrazinu v $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ kyselině sírové. Chybové úsečky jsou dány směrodatnou odchylkou pěti měření.



Obr. 37: Diferenční pulzní voltamogramy allurové červeně v prostředí 0,1 mol.l⁻¹ kyseliny sírové. Koncentrace allurové červeně (mol.l⁻¹): 5.10⁻⁷ (a), 7,5.10⁻⁷ (b), 1.10⁻⁶ (c), 2,5.10⁻⁶ (d), 5.10⁻⁶ (e), 7,5.10⁻⁶ (f), 1.10⁻⁵ (g), 2,5.10⁻⁵ (h), 5.10⁻⁵ (i), 1.10⁻⁴ (j). Vložený graf zobrazuje voltamogramy pro nižší koncentrace (a) až (g)

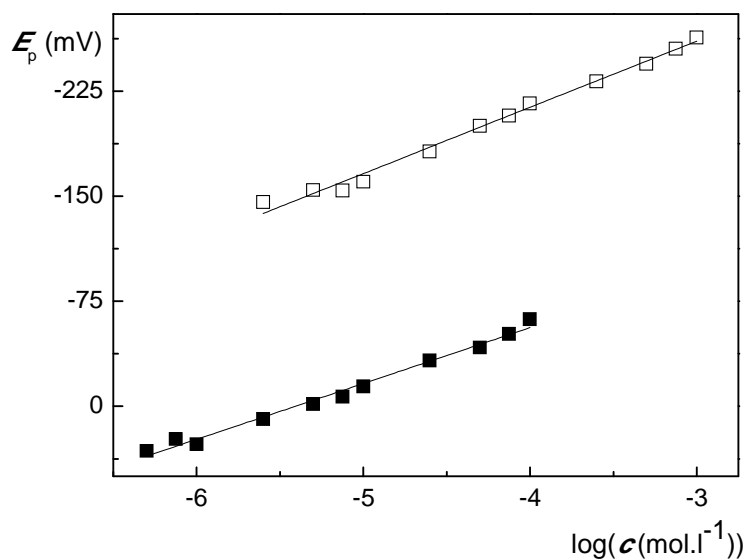


Obr. 38: Kalibrační závislost allurové červeně v 0,1 mol.l⁻¹ kyselině sírové. Chybové úsečky jsou dány směrodatnou odchylkou pěti měření.

Tab. 13: Parametry kalibračních závislostí a meze detekce a stanovitelnosti tartrazinu a allurové červeně pro katodickou předpřípravu elektrodového povrchu.

	LDR ($\mu\text{mol.l}^{-1}$)	R	Směrnice ($\text{nA.l.}\mu\text{mol}^{-1}$)	Úsek (nA)	RSD ^a (%)	LOQ ($\mu\text{mol.l}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{mol.l}^{-1}$)
Tartrazin	2,5– 100	0,989	$-0,531 \pm 0,02$	$3,02 \pm 0,89$	22,5	3,29	1,10
	100–1000	0,996	$-1,50 \pm 0,009$	$102,65 \pm 5,10$			
Allurová červeně	0,5 – 10	0,998	$-1,96 \pm 0,08$	$-0,84 \pm 0,24$	16,9	2,19	0,66
	10– 100	0,995	$-0,90 \pm 0,06$	$-12,87 \pm 1,74$			

^a RSD výšky píku pro koncentraci $2,5\mu\text{mol.l}^{-1}$ protartrazin a $0,5\mu\text{mol.l}^{-1}$ pro allurovou červeně, $n = 10$



Obr. 39: Závislost potenciálu redukčních píků E_p tartrazinu (\square) a allurové červeně (\blacksquare) na logaritmu jejich koncentrace, vyhodnoceno z kalibračního měření.

3.6.2. Elektrochemická redukce azobarviv v reálném vzorku

3.6.2.1. Vliv matrice na stanovení azobarviv v reálném vzorku

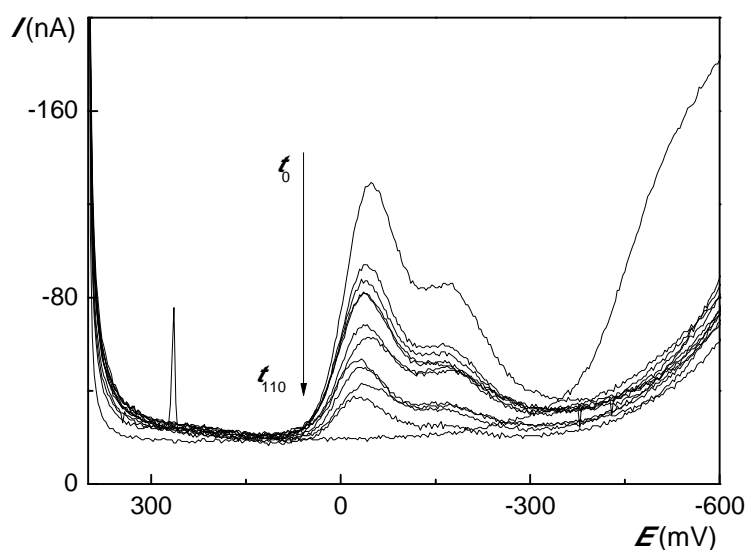
Stanovení obsahu tartrazinu a allurové červeně v limonádě Mountain Dew bylo opět provedeno za optimálních podmínek určených měřením standardů potravinářských barviv a jejich směsí: katodická předpříprava elektrody v $0,5 \text{ mol.l}^{-1}$ kyselině sírové s vloženým potenciálem $-2,7 \text{ V}$ po dobu 10 minut a 20ti sekundová katodická aktivace mezi scany s vloženým potenciálem $-2,7 \text{ V}$. Voltametrická měření probíhala v prostředí kyseliny sírové a určení obsahu barviv v limonádě bylo provedeno metodou standardního přídatku.

Nejprve byl sledován vliv matrice a koncentrace kyseliny sírové na stanovení azobarviv v limonádě. Ta obsahuje dle výrobce kromě tartrazinu a allurové červeně ještě: perlivou vodu, kukuřičný sirup – ovocný, pomerančový koncentrát, kyselinu citrónovou, hexametafosfát sodný, benzoát sodný, přírodní aroma, kofein, citrát sodný, arabskou gumu, dihydrát vápenatý, bromovaný rostlinný olej, brilantní modř. Na obr. 40 jsou uvedeny DP voltamogramy vzorku limonády, které byly vybrány z kontinuálního měření po dobu 110 minut. Je zřejmé, že u vzorku limonády se s dobou měření snižuje elektrodová odezva přítomných azobarviv, i když byla mezi scany aplikována katodická aktivace. Porovnáním těchto voltamogramů s voltamogramy směsi standardů na obr. 34 (v kapitole 3.6.1.1) je zřejmé, že jiné látky matrice zásadně neovlivňují redukční píky barviv. Elektrodu po měření vzorku limonády lze aktivovat očištěním v metanolu v ultrazvukové lázni a poté anodickou aktivací při vloženém potenciálu $+2,4 \text{ V}$ v kyselině sírové ($c = 0,5 \text{ mol.l}^{-1}$) po dobu 5 minut, před provedením vlastní katodické předpřípravy

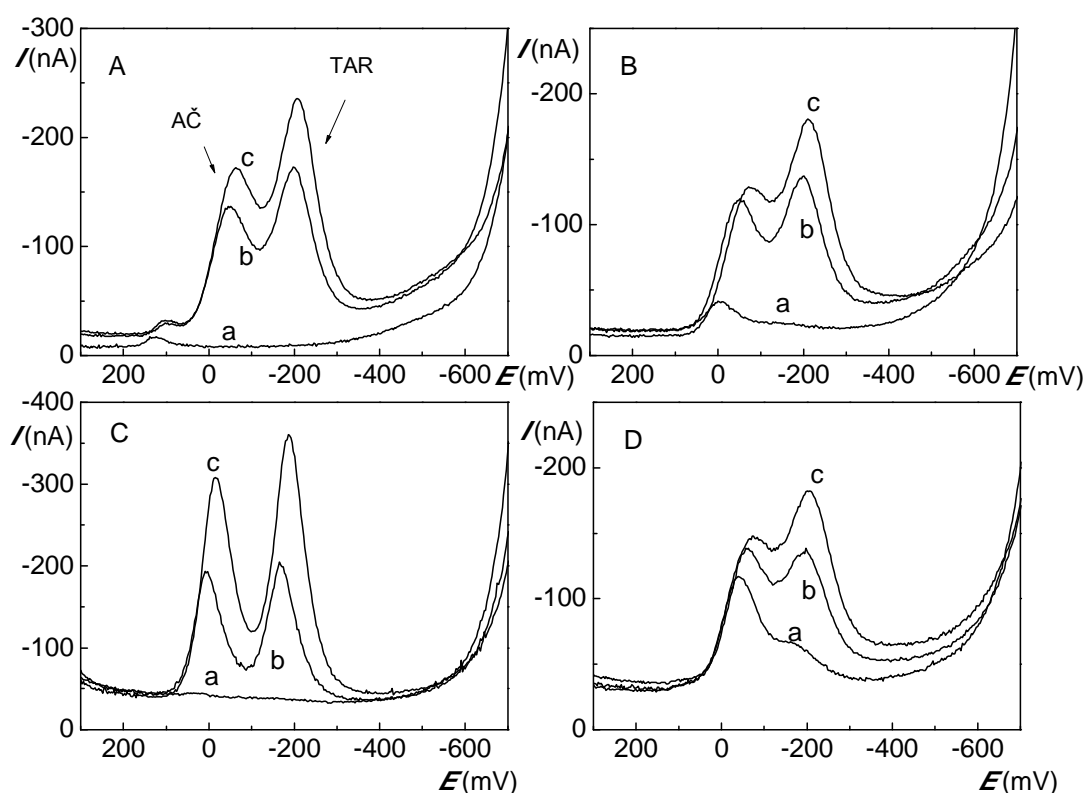
Pro studium vlivu matrice byla smíchána limonáda s kyselinou sírovou v poměru 9:1 a 1:9 (v/v) (obr. 41 B a D) a ve stejném poměru kyselina sírová s deionizovanou vodou (obr. 41 A a C), kdy výsledná koncentrace kyseliny byla $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ ve všech případech. Zaznamenané DP voltamogramy těchto směsí odpovídají křivce (a) na obr. 36. Ke směsi byla následně přidána směs azobarviv ($c = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$) v 1 mol.l^{-1} kyselině sírové. Po prvním přídatku byla koncentrace obou barviv v měřeném objemu $4,5 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ a po druhém přídatku $8,3 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$. Vyhodnocení těchto voltamogramů je zaznamenáno v tabulkách (tab. 14, tab. 15).

Porovnáním hodnot v tabulce a uvedených voltamogramů na obr. 41 (A a B nebo C a D) je zřejmý vliv matrice na redukcí azobarviv. Je zřejmé, že výšky píků standardní směsi jsou v přítomnosti limonády nižší než při měření směsi ve vodě a vykazují větší RSD pro výšku píku. Nicméně hodnoty opakovatelnosti jsou do 10 %, což je přijatelné pro stanovení azobarviv v limonádě.

Nejvhodnější poměr limonády a kyseliny sírové pro elektrochemickou redukcí azobarviv je poměr 9:1 (v/v), tj. obr. 41 D, kdy roztok obsahuje více limonády.



Obr. 40: Vybrané DP voltamogramy vzorku limonády v prostředí kyseliny sírové ($c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$) (poměr limonáda : $1 \text{ mol.l}^{-1} \text{H}_2\text{SO}_4$ je 9:1, v/v) registrované kontinuálně po dobu 110 minut zaznamenané v časech t_0 až t_{110} s katodicky předpřipravenou elektrodou a s katodickou aktivací elektrody mezi scany.



Obr. 41: DP voltamogramy (A + C) směsi standardů azobarviv (tartrazin (TAR), allurová červen (AČ)) a (B + D) vzorku limonády s přidavkem standardů azobarviv. Koncentrace každého barviva ve standardní směsi vždy $4,5 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ (křivka b) a $8,3 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ (křivka c). Křivka (a) je DP voltamogram v prostředí limonády a kyseliny sírové v poměru 1:9 (A) a 9:1 (B) a v prostředí deionizované vody a kyseliny sírové 1:9 (B) a 9:1 (C). Výsledná koncentrace kyseliny sírové je vždy $c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$.

Tab. 14: Vyhodnocení DP voltamogramů z obr. 41 C a D bez přídavku a s přídavkem standardů azobarviv v prostředí kyseliny sírové ($c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$) a deionizované vody (C) nebo limonády (D) (poměr 1:9 v/v)

matrice	$c \text{ (mol.l}^{-1}\text{)}$ standardů azobarviv	allurová červeň			tartrazin		
		$-E_p$ (mV)	$-I_p$ (nA)	RSD ^a (%)	$-E_p$ (mV)	$-I_p$ (nA)	RSD ^a (%)
deionizovaná	$4,5 \cdot 10^{-5}$	$2,0 \pm 0,6$	$149,9 \pm 12$	8,1	$168,3 \pm 1,9$	$160,9 \pm 15$	9,3
voda	$8,3 \cdot 10^{-5}$	$19,0 \pm 3,2$	$293,8 \pm 21$	7,4	$188,0 \pm 2,3$	$352,4 \pm 28$	8,0
limonáda	0	$40,5 \pm 1,7$	$83,6 \pm 1,3$	1,7	$167,0 \pm 5,5$	$31,8 \pm 1,2$	3,8
	$4,5 \cdot 10^{-5}$	$60,0 \pm 2,0$	$100,3 \pm 6,4$	6,4	$196,8 \pm 1,5$	$94,2 \pm 9,9$	10,5
	$8,3 \cdot 10^{-5}$	$74,0 \pm 8,5$	$112,5 \pm 7,6$	6,7	$206,0 \pm 1,4$	$145,9 \pm 11,2$	7,7

a-RSD výšky píků z 5ti měření

Tab. 15: Vyhodnocení DP voltamogramů z obr. 41 A a B bez přídavku a s přídavkem standardů azobarviv v prostředí kyseliny sírové ($c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$) a deionizované vody (A) nebo limonády (B) (poměr 9:1 v/v)

matrice	$c \text{ (mol.l}^{-1}\text{)}$ standardů azobarviv	allurová červeň			tartrazin		
		$-E_p$ (mV)	$-I_p$ (nA)	RSD ^a (%)	$-E_p$ (mV)	$-I_p$ (nA)	RSD ^a (%)
deionizovaná	$4,5 \cdot 10^{-5}$	$51,4 \pm 3,6$	$114,2 \pm 9$	7,6	$199,2 \pm 1,3$	$153,9 \pm 13,0$	8,4
voda	$8,3 \cdot 10^{-5}$	$63,3 \pm 2,8$	$149,9 \pm 9,5$	6,4	$207,4 \pm 1,9$	$218,8 \pm 15,5$	7,1
limonáda	0	$1,5 \pm 0,3$	$23,1 \pm 0,3$	4,1	$140,8 \pm 0,7$	$23,1 \pm 0,9$	4,1
	$4,5 \cdot 10^{-5}$	$47,8 \pm 1,2$	$84,8 \pm 5,2$	6,1	$198,3 \pm 0,2$	$101,4 \pm 7,5$	7,4
	$8,3 \cdot 10^{-5}$	$101,4 \pm 7,1$	$95,4 \pm 2,4$	2,6	$210,9 \pm 0,8$	$156,9 \pm 19,9$	12,7

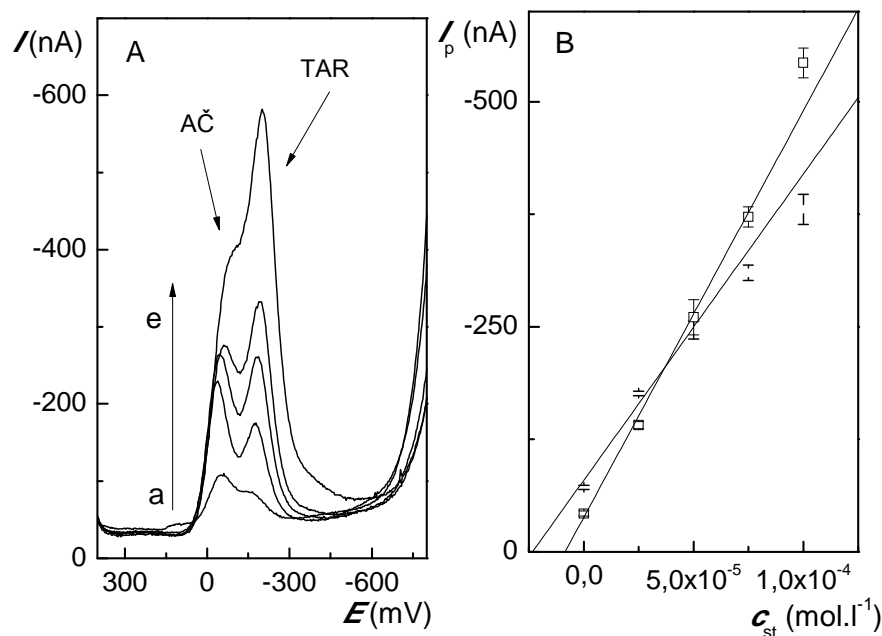
^a – RSD výšky píků z 5ti měření

3.6.2.2. Kalibrační závislost a stanovení azobarviv v reálném vzorku limonády

Pro stanovení azobarviv v reálném vzorku limonády byla nejprve ověřena linearita kalibrační závislosti v této matrici v rozsahu koncentrací azobarviv ca $10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ až $10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$.

Kalibrace byla provedena dvojím způsobem: a) s jednotlivě připravenými roztoky o celkovém objemu 10,0 ml, konstantní koncentraci kyseliny sírové $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ a objemu matrice limonády 9,0 ml (příprava viz tab. 7, naměřené DP voltamogramy obr. 42 (A) a koncentrační závislost výšek píků obr. 42 (B)) a b) přidavkem směsi standardů (DP voltamogramy obr. 43 (A) a kalibrační závislost na obr. 43 (B)), kdy bylo do roztoku obsahujícího 9,0 ml limonády, 1,0 ml kyseliny sírové ($c = 1 \text{ mol.l}^{-1}$) přidáváno 0,1 – 1,0 ml roztoku směsi standardů o koncentraci $1 \cdot 10^{-1} \text{ mol.l}^{-1}$ v 1 mol.l^{-1} kyselině sírové – docházelo tak k ředění základního elektrolytu a matrice v důsledku změny objemu. Z kalibrační závislosti na obr. 43 je vidět, že tato změna objemu a tím i koncentrace matrice a kyseliny sírové má velký vliv na výšku píku obou azobarviv v reálném vzorku a důsledkem je nelineární průběh kalibrační závislosti pro obě barviva. Metodu standardního přidavku směsi standardů přímo do měřeného roztoku, která se běžně používá na BDD elektrodách např. k určení obsahu léčiv ve farmaceutických matricích⁶⁸, tak nelze ke stanovení obsahu azobarviv v limonádě použít.

Způsob kalibrace a) vede k lineárním kalibračním závislostem v rozsahu koncentrací $2,5 \cdot 10^{-5}$ až $7,5 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ – v tab. 16 jsou uvedeny parametry kalibrace a vypočítaný obsah barviv ve vzorku limonády, který je $8,5 \text{ } \mu\text{mol.l}^{-1}$ ($4,5 \text{ mg.l}^{-1}$) pro tartrazin a $21,5 \text{ } \mu\text{mol.l}^{-1}$ ($10,7 \text{ mg.l}^{-1}$) pro allurovou červeně. Pro ověření správnosti takto získané koncentrace tartrazinu a allurové červeně by bylo vhodné použití jiné analytické metody (HPLC – UV) nebo stejnou metodou na jiné elektrodě za předpokladu dostatečné separace potenciálů píků a linearitu kalibrační závislosti.

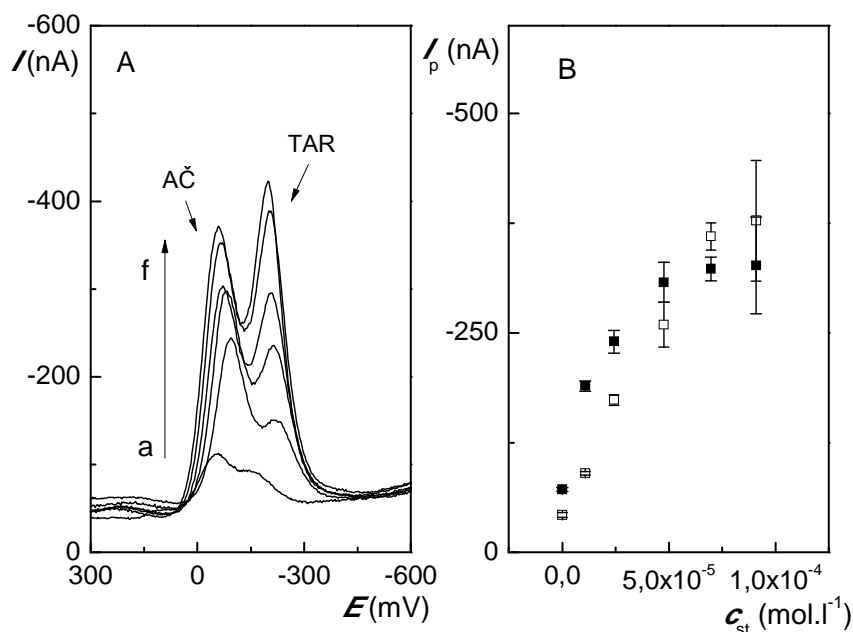


Obr. 42: (A) Diferenční pulzní voltamogramy a (B) kalibrační závislost pro stanovení obsahu tartrazinu (TAR, \square) a allurové červeně (AČ, \blacksquare) v limonádě pomocí standardních přídavek směsi azobarviv při konstantním objemu a složení matrice (poměr limonáda : 1 mol.l⁻¹ H₂SO₄ 9:1, v/v) koncentrace azobarviv (mol.l⁻¹): 0 (a), 2,5.10⁻⁵ (b), 5.10⁻⁵ (c), 7,5.10⁻⁵ (d), 1.10⁻⁴ (e). Složení roztoků je uvedeno v tabulce 7. Chybové úsečky jsou směrodatné odchylky z 10ti voltamogramů.

Tab. 16: Parametry kalibrace metodou standardního přídávku a obsah tartrazinu a allurové červeně v reálném vzorku limonády. ($n = 10$)

	R	Směrnice (nA.l.μmol ⁻¹)	Úsek (nA)	I_p (nA)	RSD ^a	c (μmol ⁻¹)
Tartrazin	0,994	-4,5±0,1	-38,4±2,6	-42,3±2,8	6,6 %	8,5±2,8
Allurová červeně	0,981	-3,6±0,1	-77,3±2,1	-71,4±2,3	3,3 %	21,5±2,3

^a – RSD výšek píků azobarviv v limonádě, $n = 10$



Obr. 43: (A) Diferenční pulzní voltamogramy a (B) kalibrační závislost pro tartrazin (TAR, □) a allurovou červeň (AR, ■) získaná přidávkem směsi azobarviv do roztoku obsahujícího limonádu a 1 mol.l⁻¹ H₂SO₄ v poměru 9:1. Koncentrace azobarviv (mol.l⁻¹): 0 (a), 9,9.10⁻⁶ (b) 2,4.10⁻⁵ (c), 4,8.10⁻⁵ (d), 7,0.10⁻⁵ (e), 9,1.10⁻⁵ (f). Chybové úsečky jsou směrodatné odchylky z 10ti voltamogramů

4. Závěr

Tato diplomová práce se zabývá využitím borem dopovaných diamantových elektrod pro elektrochemickou redukci organických látek. Jako analyty byly vybrány látky s prokazatelně redukovatelnými skupinami na elektrodách na bázi rtuti: 5-nitrochinolin (nitro skupina na aromatickém jádře a dále při vyšších potenciálech redukovatelný heterocyklus), azidothimidin (azidoskupina), tartrazin a červeň allura (azo skupina) a vanilin (redukovatelný aromatický aldehyd). Pro vybrané analyty byl studován vliv koncentrace boru v BDD filmu, vliv přítomnosti kyslíku na voltametrickou odezvu, vliv předpřípravy BDD povrchu a aktivace mezi jednotlivými scany a byly optimalizovány podmínky jejich stanovení.

Pro vanilin nebyl zaznamenán žádný signál jeho elektrochemické redukce na BDD elektrodě 4000 ppm (poměr B/C v plynné fázi při depozici) v rozsahu

pH 2,0 – 12,0, zřejmě v důsledku vysoce záporného potenciálu redukce mimo potenciálové okno BDD elektrody.

Elektrochemická redukce azidothymidinu na BDD filmu (B/C) 4000 ppm je viditelná v rozmezí pH 6,0 až pH 8,0 metodou diferenční pulzní voltametrie, nicméně vzhledem k poloze signálu blízko oblasti úniku základního elektrolytu je tato redukce pro analytické účely obtížně vyhodnotitelná.

Nitroskupina je pomocí BDD elektrody snadno redukovatelná. Optimální podmínky redukce 5-nitrochinolinu byly určeny takto. Byla použita anodická aktivace elektrody v kyselině sírové ($c = 0,5 \text{ mol.l}^{-1}$) s vloženým potenciálem +2,4 V po dobu 5ti minut. Dále byla použita mechanická aktivace elektrodového povrchu mezi scany po dobu 20ti sekund. Jako optimální prostředí pro redukci 5-nitrochinolinu byl vybrán $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ octanový pufr o pH 5. Redukce nitroskupiny na hydroxylamin při použití BDD elektrody v zásaditých prostředích probíhá dvoukrokově. 5-nitrochinolin byl studován na borem dopovaných diamantových elektrodách s obsahem boru v rozmezí 500 ppm až 8000 ppm. Více borem dopované diamantové elektrody 2000 ppm, 4000 ppm a 8000 ppm vykazují srovnatelnou elektrodovou odezvu. Diamantové filmy s nižším obsahem boru 500 ppm a 1000 ppm mají menší citlivost k redukci nitroskupiny. Mez detekce 5-nitrochinolinu pro elektrodu 4000 ppm je $0,20 \text{ } \mu\text{mol.l}^{-1}$ (DPV) a $2,7 \text{ } \mu\text{mol.l}^{-1}$ (DCV). Mez stanovitelnosti pro elektrodu 4000 ppm je $0,66 \text{ } \mu\text{mol.l}^{-1}$ (DPV) a $8,9 \text{ } \mu\text{mol.l}^{-1}$ (DCV).

Redukce azoskupiny tartrazinu a allurové červeně na BDD elektrodě s obsahem boru 4000 ppm je možná při použití katodické předpřípravy elektrody v kyselině sírové ($c = 0,5 \text{ mol.l}^{-1}$) s vloženým potenciálem -2,7 V po dobu 10ti minut a dále s katodická aktivací elektrodového povrchu mezi scany po dobu 20ti sekund s vloženým potenciálem -2,7 V. Jako optimální prostředí pro elektrochemickou redukci potravinářských azobarviv byla vybrána kyselina sírová ($c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$). Meze detekce metodou DPV pro tartrazin a allurovou červeně je $1,10 \text{ } \mu\text{mol.l}^{-1}$ a $0,66 \text{ } \mu\text{mol.l}^{-1}$. Optimalizovaná metodika byla použita k určení obsahu barviv v limonádě Mountain Dew, kdy byl metodou standardního přídatku s konstantním objemem a složením

matrice určen obsah tartrazinu $(8,5 \pm 2,8) \mu\text{mol.l}^{-1}$, $(4,5 \text{ mg.l}^{-1})$ a allurová červen $(21,5 \pm 2,3) \mu\text{mol.l}^{-1}$, $(10,7 \text{ mg.l}^{-1})$.

Literatura

1. Fujishima, A.; Einaga, Y.; Rao, T. N.; Tryk, D. A., *Diamond Electrochemistry*. Elsevier: Amsterdam, 2005.
2. Zavazalova, J.; Barek, J.; Peckova, K., Boron doped diamond electrodes in voltammetry: New Designs and Applications (an Overview). *Sensing in Electroanalysis, Pardubice* **2013/2014**, 8, 31-34.
3. Musilova, J.; Barek, J.; Peckova, K., The use of boron-doped diamond film electrodes for detection of organic compounds. *Chemicke Listy* **2009**, 103 (6), 469-478.
4. Kowalska, M.; Fabisiak, K.; Wrzyszczyński, A.; Banaszak, A.; Szybowicz, M.; Paprocki, K.; Bala, W.; Bylicki, F., CVD diamond layers for electrochemistry. *Mater. Sci.* **2014**, 32 (3), 475-480.
5. Peckova, K.; Musilova, J.; Barek, J., Boron-doped diamond film electrodes - new tool for voltammetric determination of organic substances. *Crit. Rev. Anal. Chem.* **2009**, 39 (3), 148-172.
6. Peckova, K.; Navratil, T.; Yosypchuk, B.; Moreira, J. C.; Leandro, K. C.; Barek, J., Voltammetric determination of azidothymidine using silver solid amalgam electrodes. *Electroanalysis* **2009**, 21 (15), 1750-1757.
7. Combeau, S.; Chatelut, M.; Vittori, O., Identification and simultaneous determination of Azorubin, Allura red and Ponceau 4R by differential pulse polarography: application to soft drinks. *Talanta* **2002**, 56 (1), 115-122.
8. López-de-Alba, P. L.; López-Martínez, L.; De-León-Rodríguez, L. M., Simultaneous determination of synthetic dyes Tartrazine, Allura Red and Sunset Yellow by differential pulse polarography and partial least squares. a multivariate calibration method. *Electroanalysis* **2002**, 14 (3), 197-205.
9. J.Cvačka, G. M. S., J.Barek, J.Zima, Stanovení aminonafthalenu a aminobifenylu kapalinovou chromatografií s ampérometrickou detekcí na diamantové filmové elektrodě. *Chem. Listy* **2002**, 96, 33-38.
10. Vyskocil, V.; Danhel, A.; Fischer, J.; Novotny, V.; Deylova, D.; Musilova-Karaova, J.; Maixnerova, L.; Peckova, K.; Barek, J., The beauty and usefulness of novel electrode materials. *Chemicke Listy* **2010**, 104 (12), 1181-1195.
11. Pleskov, Y. V., Electrochemistry of diamond: A review. *Russ. J. Electrochem.* **2002**, 38 (12), 1275-1291.
12. Holt, K. B.; Bard, A. J.; Show, Y.; Swain, G. M., Scanning electrochemical microscopy and conductive probe atomic force microscopy studies of hydrogen-terminated boron-doped diamond electrodes with different doping levels. *J. Phys. Chem. B* **2004**, 108 (39), 15117-15127.
13. Dandy, D. S., Influence of the gas phase on doping in diamond chemical vapor deposition. *Thin Solid Films* **2001**, 381 (1), 1-5.

14. Muramatsu, Y.; Yamamoto, Y., Local structure analysis of heavily boron-doped diamond by soft x-ray spectroscopy. *Diamond and Related Materials* **2013**, 39 (0), 53-57.
15. Fischer, A. E.; Show, Y.; Swain, G. M., Electrochemical performance of diamond thin-film electrodes from different commercial sources. *Anal. Chem.* **2004**, 76 (9), 2553-2560.
16. Girard, H.; Simon, N.; Ballutaud, D.; Herlem, M.; Etcheberry, A., Effect of anodic and cathodic treatments on the charge transfer of boron doped diamond electrodes. *Diamond and Related Materials* **2007**, 16 (2), 316-325.
17. Zivcova, Z. V.; Frank, O.; Petrak, V.; Tarabkova, H.; Vacik, J.; Nesladek, M.; Kavan, L., Electrochemistry and in situ Raman spectroelectrochemistry of low and high quality boron doped diamond layers in aqueous electrolyte solution. *Electrochimica Acta* **2013**, 87, 518-525.
18. Ferreira, N. G.; Silva, L. L. G.; Corat, E. J.; Trava-Airoldi, V. J., Kinetics study of diamond electrodes at different levels of boron doping as quasi-reversible systems. *Diam. Relat. Mat.* **2002**, 11 (8), 1523-1531.
19. Eifert, A.; Langenwalter, P.; Higl, J.; Linden, M.; Nebel, C. E.; Mizaikoff, B.; Kranz, C., Focused ion beam (FIB)-induced changes in the electrochemical behavior of boron-doped diamond (BDD) electrodes. *Electrochim. Acta* **2014**, 130, 418-425.
20. Salazar-Banda, G. R.; Andrade, L. S.; Nascente, P. A. P.; Pizani, P. S.; Rocha, R. C.; Avaca, L. A., On the changing electrochemical behaviour of boron-doped diamond surfaces with time after cathodic pre-treatments. *Electrochim. Acta* **2006**, 51 (22), 4612-4619.
21. Latta, M. N.; Pastor-Moreno, G.; Riley, D. J., The influence of doping levels and surface termination on the electrochemistry of polycrystalline diamond. *Electroanalysis* **2004**, 16 (6), 434-441.
22. Suffredini, H. B.; Pedrosa, V. A.; Codognoto, L.; Machado, S. A. S.; Rocha-Filho, R. C.; Avaca, L. A., Enhanced electrochemical response of boron-doped diamond electrodes brought on by a cathodic surface pre-treatment. *Electrochimica Acta* **2004**, 49 (22-23), 4021-4026.
23. Zavazalova, J.; Vosáhllová, J.; Šloufová, I.; Pawlova, E.; Petrák, V.; Pecková, K., Influence of boron concentration on electroanalytical performance of anodically oxidized boron-doped diamond electrodes. *Electrochim. Acta* **submitted**.
24. Vosáhllová, J. Vliv koncentrace bóru na elektrochemické vlastnosti bórem dopovaných diamantových elektrod v elektroanalýze. bachelor, Univerzita Karlova, Praha, 2013.
25. Zavazalova, J.; Prochazkova, K.; Schwarzova-Peckova, K., Boron doped diamond electrodes for voltammetric determination of benzophenone-3. *Anal. Lett.* **in press**.
26. Zuman, P., *Organická polarografie - metodika a použití*. Praha, 1966; Vol. 14, p 248.

27. Danhel, A.; Barek, J., Amalgam Electrodes in organic electrochemistry. *Current Organic Chemistry* **2011**, *15* (17), 2957-2969.
28. Yosypchuk, B.; Barek, J., Analytical applications of solid and paste amalgam electrodes. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* **2009**, *39* (3), 189-203.
29. Vyskocil, V.; Barek, J., Mercury electrodes—possibilities and limitations in environmental electroanalysis. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* **2009**, *39* (3), 173-188.
30. Zima, J.; Svancara, I.; Barek, J.; Vytras, K., Recent Advances in electroanalysis of organic compounds at carbon paste electrodes. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* **2009**, *39* (3), 204-227.
31. Medeiros, R. A.; Lourencao, B. C.; Rocha-Filho, R. C.; Fatibello-Filho, O., Simultaneous voltammetric determination of synthetic colorants in food using a cathodically pretreated boron-doped diamond electrode. *Talanta* **2012**, *97* (0), 291-297.
32. Juliao, M. S. D.; Ferreira, E. I.; Ferreira, N. G.; Serrano, S. H. P., Voltammetric detection of the interactions between RNO₂ circle- and electron acceptors in aqueous medium at highly boron doped diamond electrode (HBDDE). *Electrochim. Acta* **2006**, *51* (24), 5080-5086.
33. Dimov, I. B.; Batchelor-McAuley, C.; Aldous, L.; Compton, R. G., The adsorption of quinizarin on boron-doped diamond. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2012**, *14* (7), 2375-2380. - konference
34. Brunovská, V. Štúdium elektrochemického chovania chinínu a cinchonidínu na bórom dopovanej diamantovej elektróde. bachelor, Univerzita Karlova, Praha, 2013.
35. Radulovic, V.; Aleksic, M. M.; Agbaba, D.; Kapetanovic, V., An electroanalytical approach to brimonidine at boron doped diamond electrode based on its extensive voltammetric study. *Electroanalysis* **2013**, *25* (1), 230-236.
36. Tyszczyk-Rotko, K.; Bęczkowska, I.; Nosal-Wiercińska, A., Simple, selective and sensitive voltammetric method for the determination of herbicide (paraquat) using a bare boron-doped diamond electrode. *Diamond and Related Materials* **2014**, *50* (0), 86-90.
37. Garbellini, G. S.; Salazar-Banda, G. R.; Avaca, L. A., Sonovoltammetric determination of toxic compounds in vegetables and fruits using diamond electrodes. *Food Chemistry* **2009**, *116* (4), 1029-1035.
38. Yosypchuk, O.; Peckova, K.; Barek, J., Voltammetric determination of 1-nitropyrene and 1-aminopyrene at a boron-doped diamond film electrode (Voltametrické stanovení 1-nitropyrenu a 1-aminopyrenu na borem dopované diamantové filmové elektrodě). *Chem. Listy* **2010**, *104* (3), 186-190.
39. Cizek, K.; Barek, J.; Fischer, J.; Peckova, K.; Zima, J., Voltammetric determination of 3-nitrofluoranthene and 3-aminofluoranthene at boron doped diamond thin-film electrode. *Electroanalysis* **2007**, *19* (12), 1295-1299.
40. Jiranek, I.; Peckova, K.; Kralova, Z.; Moreira, J. C.; Barek, J., The use of silver solid amalgam electrode for voltammetric and amperometric determination of nitroquinolines. *Electrochim. Acta* **2009**, *54* (7), 1939-1947.

41. Vyskocil, V.; Barek, J., Electroanalysis of nitro and amino derivatives of polycyclic aromatic hydrocarbons *Current Organic Chemistry* **2011**, *15* (17), 3059-3076.
42. Laviron, E.; Vallat, A.; Meunier-Prest, R., The reduction-mechanism of aromatic nitro-compounds in aqueous-medium .5. the reduction of nitrosobenzene between Ph-0.4 and Ph-13. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **1994**, *379* (1-2), 427-435.
43. Peckova, K.; Barek, J.; Navratil, T.; Yosypchuk, B.; Zima, J., Voltammetric determination of nitronaphthalenes at a silver solid amalgam electrode. *Anal. Lett.* **2009**, *42* (15), 2339-2363.
44. Peckova, K.; Barek, J.; Zima, J., Determination of trace amounts of 1-nitronaphthalene by modern polarographic and voltammetric methods using mercury electrodes. *Chem. Listy* **2001**, *95* (11), 709-712.
45. Jiranek, I.; Rumlova, T.; Barek, J., Voltammetric Determination of 5-Nitroquinoline at a Carbon Film Electrode. *Lenka Srsenova-Best Servis: Usti Nad Labem*, 2010; p 93-97.
46. Vyskocil, V.; Jiranek, I.; Danhel, A.; Zima, J.; Barek, J.; Wang, J.; Peckova, K., Polarographic and voltammetric determination of genotoxic nitro derivatives of quinoline using mercury electrodes. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **2011**, *76* (12), 1991-2004.
47. Barone, G. C.; Halsall, H. B.; Heineman, W. R., Electrochemistry of Azidothymidine. *Anal. Chim. Acta* **1991**, *248* (2), 399-407.
48. Bozal, B.; Uslu, B.; Özkan, S. A., A Review of Electroanalytical techniques for determination of anti-HIV drugs. *International Journal of Electrochemistry* **2011**, *2011*, 17.
49. Trnkova, L.; Kizek, R.; Vacek, J., Square wave and elimination voltammetric analysis of azidothymidine in the presence of oligonucleotides and chromosomal DNA. *Bioelectrochemistry* **2004**, *63* (1-2), 31-36.
50. Leandro, K. C.; Moreira, J. C.; Farias, P. A. M., Determination of Zidovudine in pharmaceuticals by differential pulse voltammetry. *Anal. Lett.* **2010**, *43* (12), 1951-1957.
51. Ghoreishi, S. M.; Behpour, M.; Golestaneh, M., Simultaneous determination of Sunset yellow and Tartrazine in soft drinks using gold nanoparticles carbon paste electrode. *Food Chemistry* **2012**, *132* (1), 637-641.
52. Silva, M. L. S.; Garcia, M. B. Q.; Lima, J.; Barrado, E., Voltammetric determination of food colorants using a polyallylamine modified tubular electrode in a multicommutated flow system. *Talanta* **2007**, *72* (1), 282-288.
53. Zhang, Y.; Zhang, X. J.; Lu, X. H.; Yang, J. Q.; Wu, K. B., Multi-wall carbon nanotube film-based electrochemical sensor for rapid detection of Ponceau 4R and Allura Red. *Food Chemistry* **2010**, *122* (3), 909-913.
54. Song, Y. Z.; Xu, J. M.; Lv, J. S.; Zhong, H.; Ye, Y.; Xie, J. M., Electrochemical reduction of tartrazine at multi-walled carbon nanotube-modified pyrolytic graphite electrode. *Russ. J. Phys. Chem. A* **2012**, *86* (2), 303-310.

55. Silva, M. L. S.; Garcia, M. B. Q.; Lima, J. L. F. C.; Barrado, E., Voltammetric determination of food colorants using a polyallylamine modified tubular electrode in a multicommutated flow system. *Talanta* **2007**, 72 (1), 282-288.
56. Zhang, W. K.; Liu, T.; Zheng, X. J.; Huang, W. S.; Wan, C. D., Surface-enhanced oxidation and detection of Sunset Yellow and Tartrazine using multi-walled carbon nanotubes film-modified electrode. *Colloid Surf. B-Biointerfaces* **2009**, 74 (1), 28-31.
57. <http://www.zdravapotravina.cz/seznam-ecek/E129> (accessed 9. 5.).
58. Lopez, L. J. M.; Mochon, M. C.; Sanchez, J. C. J.; Lopez, M. A. B.; Perez, A. G., Electrochemical reduction of benzaldehyde as its Girard-P derivative at the mercury electrode and differential-pulse polarographic determination of benzaldehyde. *Mikrochim. Acta* **2001**, 137 (1-2), 19-24.
59. Yardım, Y.; Gülcan, M.; Şentürk, Z., Determination of vanillin in commercial food product by adsorptive stripping voltammetry using a boron-doped diamond electrode. *Food Chemistry* **2013**, 141 (3), 1821-1827.
60. Shang, L.; Zhao, F. Q.; Zeng, B. Z., Sensitive voltammetric determination of vanillin with an AuPd nanoparticles-graphene composite modified electrode. *Food Chemistry* **2014**, 151, 53-57.
61. Huang, L. H.; Hou, K. Y.; Jia, X.; Pan, H. B.; Du, M., Preparation of novel silver nanoplates/graphene composite and their application in vanillin electrochemical detection. *Mater. Sci. Eng. C-Mater. Biol. Appl.* **2014**, 38, 39-45.
62. Jow, J.-J.; Chou, T.-C., Product distributions and kinetics of cathodic reduction of vanillin in aqueous solution. *Electrochimica Acta* **1987**, 32 (2), 311-317.
63. Jiang, L.; Ding, Y. P.; Jiang, F.; Li, L.; Mo, F., Electrodeposited nitrogen-doped graphene/carbon nanotubes nanocomposite as enhancer for simultaneous and sensitive voltammetric determination of caffeine and vanillin. *Anal. Chim. Acta* **2014**, 833, 22-28.
64. Zavazalova, J.; Prochazkova, K.; Schwarzkova-Peckova, K., Utilization of boron doped diamond electrodes for voltammetric determination of benzophenone-3. *Anal. Lett.* **in press**.
65. Živcová, Z. V.; Frank, O.; Petrák, V.; Tarábková, H.; Vacík, J.; Nesládek, M.; Kavan, L., Electrochemistry and in situ Raman spectroelectrochemistry of low and high quality boron doped diamond layers in aqueous electrolyte solution. *Electrochimica Acta* **2013**, 87 (0), 518-525.
66. Feng, F.; Zhao, Z.; Yong, W.; Sun, L.; Jiang, G.; Chu, X., Highly sensitive and accurate screening of 40 dyes in soft drinks by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B* **2011**, 879, 6.
67. Uslu, B.; Ozkan, S. A., Electroanalytical application of carbon based electrodes to the pharmaceuticals. *Analytical Letters* **2007**, 40 (5), 817-853.